

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201991059 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.01.31

(22) Дата подачи заявки
2013.07.08

(51) Int. Cl. C07K 14/20 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(54) МУТАНТНЫЕ ФРАГМЕНТЫ OspA И СВЯЗАННЫЕ С НИМИ СПОСОБЫ И ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 61/668,627; 13/802,991

(32) 2012.07.06; 2013.03.14

(33) US

(62) 201590162; 2013.07.08

(71) Заявитель:
ВАЛНЕВА АУСТРИА ГМБХ (АТ)

(72) Изобретатель:
Комстедт Пер, Лундберг Урбан,
Майнке Андреас, Ханнер Маркус,
Шюлер Вольфганг (АТ), Вайзел
Бенджамин (US), Райниш Кристоф,
Громанн Брижитт, Шлегль Роберт
(АТ)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Данное изобретение относится к полипептиду, содержащему мутантный фрагмент внешнего поверхностного белка А (OspA), нуклеиновой кислоте, кодирующей его, фармацевтической композиции (в частности, для применения в виде лекарственного средства в способе лечения или профилактики инфекции Borrelia), содержащей полипептид и/или нуклеиновую кислоту, способу лечения или профилактики инфекции Borrelia и способу иммунизации субъекта.

A1

201991059

201991059

A1

МУТАНТНЫЕ ФРАГМЕНТЫ OspA И СВЯЗАННЫЕ С НИМИ СПОСОБЫ И ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Данное изобретение относится к композициям и способам профилактики и лечения инфекции *Borrelia*. В частности, данное изобретение относится к полипептиду, содержащему мутантный фрагмент внешнего поверхностного белка А (OspA), нуклеиновой кислоте, кодирующей его, фармацевтической композиции (в частности, для применения в качестве лекарственного средства в способе лечения или профилактики инфекции *Borrelia*), содержащей полипептид и/или нуклеиновую кислоту, способу лечения или профилактики инфекции *Borrelia* и способу иммунизации субъекта.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Боррелиоз Лайма, или болезнь Лайма, – это наиболее распространенное заболевание, которое вызывается клещами в Европе и Северной Америке. Заболевание вызывается подобной Грамотрицательным микроорганизмам спирохетой, *Borrelia burgdorferi*, в широком понимании (*B. burgdorferi* s.l.), которую переносят членистоногие, и она представляет собой инфекцию, которая может поражать множественные органы или ткани, что приводит к повреждениям кожи, сердца, скелетно-мышечного аппарата и неврологическим расстройствам. В большинстве стран боррелиоз Лайма не является заболеванием, которое подлежит регистрации, и точные данные относительно ежегодного количества происшествий отсутствуют. В Соединенных Штатах Америки возбудителем болезни является собственно *B. burgdorferi* (*B. burgdorferi* s.s.), и болезнь Лайма локализируют в северо-восточных, средне-атлантических и верхних северо-центральных штатах. В 2010 году в целом около 30 000 случаев боррелиоза Лайма были зарегистрированы в США Центрами контроля и профилактики заболеваний (CDC). В Европе основными возбудителями болезни боррелиоза Лайма являются *B. afzelii* и *B. garinii*, а также *B. burgdorferi* s.s. и *B. bavariensis*, которые оказывают меньшее влияние, в зависимости от географического расположения. Распространенность боррелиоза Лайма в

значительной мере варьирует в разных европейских странах и в целом увеличивается с запада к востоку. В большей части Европы количество зарегистрированных случаев боррелиоза Лайма выросло с начала 1990-х годов (например, Чешская Республика, Эстония, Литва; см. Боррелиоз Лайма в Европе, отчет ВОЗ 2006 года), и географическое распространение случаев также расширилось.

Borrelia принадлежит к семье *Spirochaetaceae*, которая подразделяется на важные с медицинской точки зрения виды *Treponema*, *Leptospira* и *Borrelia*. *B. burgdorferi* s.l. представляет собой Грамотрицательную бактерию в форме спирали, что энергично двигается, длиной около 10–20 мкм и шириной 0,2–0,5 мкм, которая растет в микроаэрофильных условиях. Стенка клетки спирохеты состоит из цитоплазматической мембраны, окруженной пептидогликаном и несколькими жгутиками, а затем слабо присоединенной внешней мембраной.

Протекание боррелиоза Лайма в целом разделяется на стадии, которые характеризуются разными клиническими проявлениями, с эпизодами ремиссии и обострения. Стадия 1, ранняя инфекция, заключается в локализованной инфекции кожи, за которой следует в пределах нескольких дней или недель стадия 2, распространенная инфекция, и через месяцы или годы – стадия 3, перманентная инфекция. Однако инфекция переменчива; у некоторых пациентов присутствуют только локализованные инфекции кожи, тогда как у других болезнь проявляется только на более поздних этапах, например, в виде артрита. Разнообразные клинические синдромы боррелиоза Лайма также вызывает инфицирование разными видами *B. burgdorferi* s.l. *B. burgdorferi* s.s. чаще вызывает проявления болезни в суставах (артрит) и проблемы сердца, *B. afzelii* вызывает преимущественно кожные симптомы (мигрирующая эритема; МЕ и атрофический хронический акродерматит; АХА), тогда как *B. garinii* вовлечена в большинство случаев нейроборрелиоза.

Локализованная инфекция, которая является наиболее распространенным симптомом стадии 1 инфекции – это мигрирующая эритема, которая возникает у 70–80% инфицированных людей. За таким повреждением кожи часто следуют гриппоподобные симптомы,

такие как миалгия, артралгия, головная боль и лихорадка. Указанные неспецифические симптомы возникают у 50% больных с мигрирующей эритемой.

Распространенная инфекция - в ходе стадии 2 бактерии перемещаются в кровоток от места инфекции к периферическим тканям и органам. Неврологические, сердечно-сосудистые и артритные симптомы, которые возникают на данной стадии, включают менингит, черепную невралгию и перемежающийся воспалительный артрит.

Перманентная инфекция - стадия 3 инфекции - является хронической и длится от нескольких месяцев до нескольких лет после укуса клеща. Наиболее распространенным симптомом в Северной Америке является ревматоидный артрит, вызванный инфекцией *B. burgdorferi* s.s. Перманентная инфекция центральной нервной системы *B. garinii* вызывает более тяжелые неврологические симптомы в ходе стадии 3, а перманентная инфекция кожи *B. afzelii* приводит к хроническому атрофическому акродерматиту.

В некоторых группах риска, таких как фермеры, работники лесного хозяйства, путешественники, бегуны или курортники, доминирование серотипа и распространенность заболевания возрастают, как и у детей в возрасте до 15 лет и взрослых в возрасте от 39 до 59 лет, независимо от пола. Такое увеличение частоты возникновения боррелиоза Лайма связано с изменением лесной фауны, а также общественными факторами. Экологические изменения, такие как фрагментация леса, привели к резкому уменьшению хищников, которые охотятся на грызунов, таких как лисы и хищные птицы, что, в свою очередь, привело к росту популяции мышей, с последующим ростом популяции клещей. Не так давно локальное лесонасаждение увеличило количество оленей, и, таким образом, количество клещей. Неконтролируемый рост пригородов и увеличенное использование лесистых местностей для отдыха, такое как походные лагеря и путешествия пешком, привело к тому, что люди более тесно соприкасаются с большим количеством разносимой клещами инфекции *Borrelia*. Все эти факторы, вместе взятые, способствовали более широкому

распространению *Borrelia* и большей частоте возникновения боррелиоза Лайма.

Противомикробные средства являются принципиальным способом лечения инфекции *Borrelia*. Используемый антибиотик зависит от стадии заболевания, симптомов и вида аллергии больного на лекарственные препараты. Длительность курса приема антибиотиков также зависит от стадии заболевания и тяжести симптомов. Раннюю стадию боррелиоза Лайма обычно лечат перорально тетрациклинами, такими как доксициклин, и полусинтетическими пенициллинами, такими как амоксициллин или пенициллин V. Артритные и неврологические расстройства лечат внутривенно высокими дозами пенициллина G или цефтриаксона. До 30% больных боррелиозом Лайма не обнаруживают ранних характерных симптомов инфекции *Borrelia*, что делает диагностику и лечение проблематичными. Курс антибиотиков может быть длительным (до нескольких месяцев) и иногда неэффективным, и этот вопрос дискутируется в сфере лечения *Borrelia*, в частности на более поздних стадиях заболевания. Даже в случае эффективного лечения *Borrelia* у пациентов годами могут оставаться инвалидизирующая усталость, боль или неврологические симптомы, что проявляется как постлечебный синдром болезни Лайма. В целом, применение антибиотиков может иметь нежелательные последствия, такие как развитие резистентности целевых микроорганизмов. В конце концов, антибиотикотерапия может эффективно лечить боррелиоз Лайма, но не обеспечивает защиты против последующих инфекций.

Одновалентная вакцина на базе серотипа 1-OspA (LYMErix™) была одобрена и присутствует на рынке США для профилактики болезни Лайма, вызванной *Borrelia burgdorferi* s.s. Однако гетерогенность последовательностей OspA для разных серотипов в Европе и в других регионах препятствует эффективной защите вакциной, что базируется на OspA только от одного серотипа.

Химерные молекулы OspA, которые содержат проксимальную часть одного OspA серотипа, вместе с дистальной частью образуют другой OspA серотип, в то время как сохранение антигенных свойств обоих родительских полипептидов можно использовать для

профилактики и лечения болезни Лайма или боррелиоза (WO2011/143617, WO2011/143623).

В данный момент на рынке отсутствуют профилактические лекарственные средства для боррелиоза Лайма, и поэтому в данной области техники существует потребность в разработке такого лекарственного средства, которое может обеспечить эффективную защиту против *Borrelia*, присутствующих в США, Европе и других регионах, в частности в разработке лекарственного средства, которое может обеспечить эффективную защиту против нескольких серотипов *Borrelia* одновременно.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к полипептиду, содержащему мутантный фрагмент внешнего поверхностного белка А (OspA) *Borrelia*, нуклеиновой кислоте, кодирующей его, вектору, содержащему такую молекулу нуклеиновой кислоты, и клетке-хозяину, содержащей такой вектор. Дополнительно, в изобретении предлагается способ получения указанного полипептида и способ получения клетки, которая экспрессирует указанный полипептид. Кроме того, в данном изобретении предлагаются антитела, которые специфически связываются с указанным полипептидом, клетка-гибридомы, которая продуцирует такие антитела, способы получения таких антител, фармацевтическая композиция, содержащая такой полипептид, молекулу нуклеиновой кислоты, вектор или антитела, применение такого полипептида, молекулы нуклеиновой кислоты, вектора или антитела для получения лекарственного средства или фармацевтической композиции (в частности, для применения в виде вакцины или в способе лечения или профилактики инфекции *Borrelia*), способы диагностики инфекции и способы лечения или профилактики инфекции *Borrelia* и способы иммунизации субъекта.

Усилия по разработке субъединичной вакцины для профилактики боррелиоза Лайма сконцентрированы в большой мере на применении внешнего поверхностного белка А (OspA) боррелии как антигена. *Borrelia* экспрессирует белок OspA только тогда, когда она находится в кишечнике клеща как переносчика инфекции. Таким образом, антитела против OspA, продуцируемые вакцинацией,

не противостоят инфекции в организме, а скорее, входят в кишечник клеща, когда он всасывает кровь. Там антитела нейтрализуют спирохеты и блокируют миграцию бактерий из средней кишки в слюнные железы клеща, по маршруту, по которому *Borrelia* проникает в организм позвоночного хозяина. Таким образом, OspA-специфические антитела предотвращают передачу *Borrelia* от клеща как переносчика инфекции хозяину-человеку.

Липидированная форма OspA от *B. burgdorferi* s.s., штамм ZS7, вместе с гидроксидом алюминия коммерчески разработана как вакцина против *Borrelia* (LYMERix™) SmithKline Beecham, на сегодняшний день GlaxoSmithKline (GSK) для рынка США. Три дозы LYMERix™ на протяжении одного года были нужны для оптимальной защиты. После введения первых двух доз эффективность вакцины против боррелиоза Лайма составляла 49%, и после введения третьей дозы - 76%. Однако вскоре после выведения LYMERix™ на рынок, он был отозван с рынка в 2002 году. Приведенные причины заключались в проблемах практического применения вакцины, например, необходимости бустерных инъекций ежегодно или через год, а также относительно высокой стоимости данного профилактического подхода, по сравнению с лечением антибиотиками ранней стадии инфекции. Дополнительно, существовала озабоченность тем, что LYMERix™ мог спровоцировать аутоиммунные реакции в подгруппе популяции в результате гомологии последовательности с человеческим белком, хотя это никогда не было доказано. Кроме того, данная вакцина не обеспечивала перекрестной защиты против других клинически важных видов *Borrelia*.

Соответственно, в одном варианте реализации изобретения заданием данного изобретения было предложить усовершенствованную вакцину для профилактики боррелиоза Лайма. Преимущественно, вакцина легко продуцируется, обеспечивая защиту, безопасность и высшую эффективность, чем существующие средства лечения, и/или обеспечивает защиту против более чем одного вида *Borrelia*.

Проблема, лежащая в основе данного изобретения, решается с

помощью полипептида, содержащего мутантный фрагмент внешнего поверхностного белка А (OspA), причем мутантный фрагмент состоит из С-концевого домена белка OspA *Borrelia* и отличается от соответствующего фрагмента дикого типа по меньшей мере введением по меньшей мере одной дисульфидной связи.

Неожиданно было обнаружено, что введение по меньшей мере одной дисульфидной связи в мутантный фрагмент увеличивает защитную способность полипептида, содержащего мутантный фрагмент OspA, относительно полипептида, содержащего фрагмент OspA дикого типа, как показано на модели инфекции *in vivo*. Как показано в Примерах, введение по меньшей мере одной дисульфидной связи в С-концевой фрагмент OspA *B. afzelii* увеличивает его защитную способность относительно фрагмента OspA дикого типа без дисульфидной связи. В Таблицах 2 и 3 приведены данные, которые демонстрируют защитную способность мутантных фрагментов с введенной дисульфидной связью («S2D1-5»), по сравнению с фрагментом («S2D0») OspA дикого типа, поскольку меньше животных были инфицированы после иммунизации мутантными фрагментами OspA, в сравнении с фрагментами OspA дикого типа. Часть протестированных мутантных фрагментов OspA обеспечивала защиту, сопоставимую с защитой, которая обеспечивается положительным контрольным антигеном, полноразмерным белком нелипидированного OspA.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Соответственно, в первом аспекте данное изобретение относится к полипептиду, содержащему мутантный фрагмент внешнего поверхностного белка А (OspA), причем мутантный фрагмент состоит из С-концевого домена OspA *Borrelia* и отличается от соответствующего фрагмента дикого типа по меньшей мере введением по меньшей мере одной дисульфидной связи.

Термин *B. burgdorferi* s.l. охватывает по меньшей мере 13 видов *Borrelia* (Таблица А-1). Указанные виды встречаются в разных географических регионах и живут в природе в энзоотических циклах, которые включают комплекс клещей *Ixodes ricinus* (также называется комплексом *Ixodes persulcatus*) и широкий диапазон животных-хозяев. Четыре вида *Borrelia*

ответственны за большинство инфекций у человека: *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. bavariensis* и *B. garinii*. Три других вида, *B. lusitaniae*, *B. bissettii* и *B. spielmanii*, были случайно обнаружены у человека, но их роль в развитии боррелиоза Лайма на данное время является сомнительной. Новые виды *Borrelia* все еще регистрируются.

Таблица А-1

Патогенные виды (4)	Главный клещевой переносчик	Распространение
<i>Borrelia burgdorferi</i> (<i>Borrelia burgdorferi</i> s.s.)	<i>Ixodes scapularis</i> <i>Ixodes pacificus</i> <i>Ixodes ricinus</i> <i>Ixodes persulcatus</i>	Северо-восточные/северо-центральные штаты США Западные штаты США Европа Азия
<i>Borrelia garinii</i>	<i>Ixodes ricinus</i> <i>Ixodes persulcatus</i>	Европа Азия
<i>Borrelia afzelii</i>	<i>Ixodes ricinus</i> <i>Ixodes persulcatus</i>	Европа Азия
<i>Borrelia bavariensis</i>	<i>Ixodes ricinus</i> <i>Ixodes persulcatus</i>	Европа Азия
Минимально патогенные или непатогенные виды (9)	Главный клещевой переносчик	Распространение
<i>Borrelia andersonii</i>	<i>Ixodes dentatus</i>	Восточные штаты США
<i>Borrelia bissettii</i>	<i>Ixodes spinipalpis</i> <i>Ixodes pacificus</i> <i>Ixodes ricinus</i>	Западные штаты США Европа
<i>Borrelia valaisiana</i>	<i>Ixodes ricinus</i> <i>Ixodes columnae</i>	Европа и Азия
<i>Borrelia lusitaniae</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	Европа
<i>Borrelia spielmanii</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	Европа
<i>Borrelia japonica</i>	<i>Ixodes ovatus</i>	Япония
<i>Borrelia tanukii</i>	<i>Ixodes tanuki</i>	Япония
<i>Borrelia turdi</i>	<i>Ixodes turdus</i>	Япония
<i>Borrelia sinica</i>	<i>Ixodes persulcatus</i>	Китай

Как подробно описано выше, внешний поверхностный белок А (OspA) *Borrelia* представляет собой распространенный иммуногенный липопротейн *Borrelia*, который представляет особенный интерес из-за его потенциала как кандидата на создание вакцины. OspA *B. burgdorferi* s.l. – это основной липопротейн с молекулярной массой приблизительно 30 кДа и кодируется на линейной плазмиде. Важным аспектом белка OspA является его N-концевое липидирование; то есть N-концевой остаток цистеина заменен на жирные кислоты с длиной цепи от C14 до C19 с двойными связками или без них, особенностью, которая увеличивает иммуногенность белка OspA. Продемонстрировано, что слабо иммуногенные синтетические пептиды индуцируют более выраженные реакции в форме антител, если они липидированы; например, если они ковалентно соединены с Pam₃Cys (Bessler and Jung, Research Immunology (1992) 143:548-552), причем замещение жирной кислотой обнаружено на амино-конце многочисленных бактериальных липопротеинов, которые синтезированы с сигнальной последовательностью, которая обуславливает присоединение липида. Дополнительно, было показано, что фрагмент Pam₃Cys усиливает иммунные реакции на OspA у мышей, частично в результате его взаимодействия с TLR-2 (Yoder, et al. (2003) Infection and Immunity 71:3894-3900). Таким образом, ожидается, что липидирование C-концевого фрагмента OspA увеличит иммуногенность и защитную способность фрагмента.

Анализ штаммов *B. burgdorferi* s.l., полученных в Северной Америке и Европе, выявил, что OspA свойственна антигенная вариабельность и что несколько четких групп могут быть определены на основании серологических характеристик. Сообщалось об анти-OspA mAb, которые связываются со специфическими N- и C-концевыми антигенными детерминантами. Рентгеноструктурные исследования и ЯМР анализ применяют для идентификации важных с иммунологической точки зрения гипервариабельных доменов у OspA и картируют эпитоп LA-2 к C-концевым аминокислотам 203-257 (Ding et al., Mol. Biol. 302: 1153-64, 2000). Предыдущие исследования показали, что продуцирование антител в отношении C-концевого эпитопа LA-2

коррелирует с защитным иммунитетом после вакцинации с применением OspA (Van Hoeske et al. Vaccine (1996) 14(17-18):1620-6 и Steere et al., N Engl J Med (1998) 339:209-215). Антитела LA-2 продемонстрировали блокировку передачи *Borrelia* от клеща хозяину (Golde et al., Infect Immun (1997) 65(3):882-889). Указанные исследования навели на мысль о том, что С-концевая часть белка OspA может быть достаточной для индукции защитного иммунитета. Следует отметить, что последовательность С-концевой части OspA является не настолько высоко консервативной между серотипами *Borrelia*, как последовательность N-концевой части (см. Фиг. 1).

На основании информации исследований, вкратце обозначенных выше, вместе с другими данными укороченные формы OspA, содержащие С-концевую часть (также обозначенные в данном документе как «фрагмент OspA» или «мономер») применили в данном изобретении. Оказалось, что данные укороченные формы OspA обладают меньшими защитными свойствами, чем полноразмерный белок OspA. Однако в ходе реализации данного изобретения неожиданно было выявлено, что введение дисульфидной связи в укороченную форму (также обозначенная в данном документе как «мутантный фрагмент OspA» или «мутантный фрагмент») позволяет преодолеть указанный недостаток. Не ограничиваясь конкретным механизмом, считается, что улучшенная защита является следствием повышения стабильности фрагмента OspA, как показано в анализах с измерением термической стабильности.

В соответствии с данным изобретением, мутантный фрагмент OspA может быть получен из любых видов *Borrelia*; однако ввиду их отношения к медицинской отрасли, включая медицину человека, *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. bavariensis* и *B. garinii* являются предпочтительными. В этом отношении указанные четыре вида *Borrelia* могут быть дополнительно классифицированы в соответствии с их OspA серотипом, который определяют путем анализа со специфическими моноклональными антителами к соответствующему белку OspA. Серотипы 1-7, ответственные за большинство инфекций *Borrelia* у человека, вместе с их распространенностью приведены ниже в Таблице А-2.

Таблица А-2

Обозначение серотипа и распространенность *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. bavariensis* и *B. garinii*. Серотип *Borrelia*, выделенных из спинномозговой жидкости или кожи человека или из клещевых переносчиков инфекции, определен путем зондирования лизатов цельной клетки с моноклональными антителами мыши, каждое из которых является специфическим по отношению к конкретному эпитопу OspA (как описано Wilske et al., J. of Clin Microbiol (1993) 31(2):340-350 и представлено Baxter Bioscience в «Climate change effect on ticks and tick-borne diseases», Brussels, 06 Feb 2009).

Вид <i>Borrelia</i>	Серотип OspA, определенный тестированием с mAb	Распростра- ненность при заболевании человека	Источник штамма для последова- тельности	Seq ID No:
<i>B. burgdorferi</i> s.s.	1	11%	B31	20
<i>B. afzelii</i>	2	63%	K78	19
<i>B. garinii</i>	3	1.5%	PBr	21
<i>B. bavariensis</i>	4	4%	PBi	22
<i>B. garinii</i>	5	6%	PHEi	23
<i>B. garinii</i>	6	13%	DK29	24
<i>B. garinii</i>	7	0,5%	T25	25

Структура белка OspA от *B. burgdorferi* s.s., штамм B31, определена Li et al. (Proc Natl Acad Sci (1997) 94:3584-3589). Она состоит из N-концевого (β -цепи 1-4) и центрального β -листов (β -цепи 5-14n [N-концевая часть]), листа цилиндрической части 1 (β -цепи от 14с [C-концевая часть] до 16), листа цилиндрической части 2 (β -цепи 17-21) и C-концевой α -спирали. Термин «C-концевой домен OspA» или «C-концевой домен», или «фрагмент дикого типа», или «C-концевая часть» в отношении OspA, который используют в данном документе, должен обозначать C-концевую

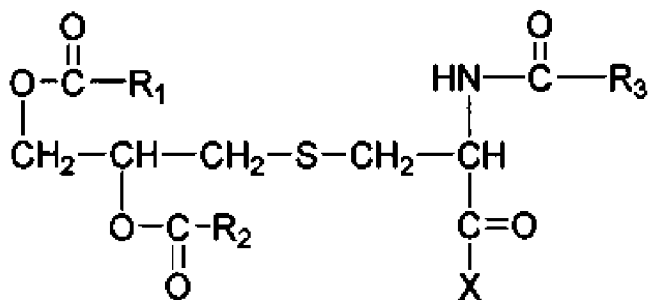
аминокислотную последовательность OspA, то есть OspA, в котором отсутствует по меньшей мере N-концевой β -лист (в том числе β -цепи 1-4). В OspA от *B. burgdorferi* s.s., штамм B31, N-концевой лист состоит из аминокислот 17-70 (после посттрансляционного отщепления сигнального пептида липидации длиной 16 аминокислот (ак)).

C-концевой фрагмент OspA по данному изобретению может также содержать сигнальную последовательность липидации на N-конце, например, сигнальную последовательность липидации в виде аминокислот 1-16 OspA (SEQ ID NO: 14) или OspB (SEQ ID NO: 15) из *B. burgdorferi* s.s., штамм B31, сигнальную последовательность липидации из *E. coli*, обозначенную в данном документе как «сигнал липидации lpp» (SEQ ID NO: 16) или какую-нибудь другую сигнальную последовательность, например, как определено ниже.

Липидация белка с N-концевой сигнальной последовательностью липидации, такая как присутствующие на возникающем полипептиде OspA, происходит в векторе экспрессии *E. coli* под поэтапным действием ферментов диацилглицерилтрансферазы, сигнальной пептидазы II и трансацилазы, соответственно. Первая стадия представляет собой перенос диацилглицерида в сульфгидрильную группу цистеина немодифицированного пролипопротеина, с последующим расщеплением сигнального пептида сигнальной пептидазой II и, в конце, ацилированием α -аминогруппы N-концевого цистеина аполипопротеина. Результатом является размещение одного липида и глицериновой группы, замещенной двумя дополнительными липидами, на N-концевом остатке цистеина в полипептиде. Сигнальная последовательность липидирования, которая отщепляется в ходе липидирования, отсутствует в последовательности конечного пептида.

В соответствии с данным изобретением, мутантный фрагмент OspA может быть липидированным белком, который также называется липопротеином, причем липидные фрагменты, вместе с группой глицерина, также обозначены как «Lip». В соответствии с данным

изобретением, Lip содержит от одного до трех липидов, таких как C₁₄₋₂₀ алкил и/или C₁₄₋₂₀ алкенил, присоединенных к глицерину и N-концевому цистеину полипептида по данному изобретению, или преимущественно, при том, что Lip представляет собой фрагмент в соответствии с формулой (I) ниже,



Формула (I),

где каждый из R₁, R₂ или R₃ представляет собой C₁₄₋₂₀ алкил или алкенил, и каждый из других независимо представляет собой C₁₄₋₂₀ алкил или C₁₄₋₂₀ алкенил, и X представляет собой последовательность аминокислот, присоединенную к остатку цистеина, проиллюстрированному в Формуле (I). Более предпочтительно, Lip плюс N-концевой цистеин полипептида представляет собой N-пальмитоил-S-(2RS)-2,3-бис-(пальмитоилокси) пропил цистеин (именуемый в данном документе как «Pam₃Cys») и соединенный через карбонильный C цистеина с указанной последовательностью аминокислот по данному изобретению. В Формуле (I) вышеуказанные R₁, R₂ и R₃ были бы пальмитоильными фрагментами, и X - последовательностью аминокислот, присоединенной к остатку цистеина.

В соответствии с данным изобретением, С-концевой домен OspA из штамма, отличного от *B. burgdorferi* s.s. B31, определен (i) отсутствием по меньшей мере аминокислот 17-70 и/или (ii) отсутствием по меньшей мере N-концевого домена, гомологичного аминокислотам 17-70 OspA из *B. burgdorferi* s.s. B31. Дополнительно, в С-концевом домене OspA, согласно данному изобретению, также могут отсутствовать дополнительные части центрального листа, как определяется Li et al. (Li et al., выше), в частности, дополнительные цепи, такие как

аминокислотные части от аминокислоты 17 до 82, 93, 105, 118 или 119, предпочтительно 17-129, более предпочтительно 1-125, 1-129 или 1-130 любой *Borrelia*, в частности, *B. burgdorferi* s.s. B31, или гомологичные части белка OspA из вида *Borrelia*, отличные от *B. burgdorferi* s.s. B31.

В контексте данного изобретения С-концевой домен OspA также обозначен как «OspA фрагмент» или «фрагмент OspA».

«Мутантный фрагмент», в контексте полипептида по данному изобретению и применяемый в данном документе, должен обозначать С-концевой фрагмент OspA, как определено выше, который отличается от по меньшей мере фрагмента дикого типа по меньшей мере двумя введенными остатками цистеина, которые могут образовывать дисульфидную связь. Без связи с указанной теорией предполагают, что дисульфидная связь стабилизирует фрагмент в конформации, что способствует индукции связывания антитела. Сворачивание С-концевого фрагмента дикого типа OspA демонстрирует уменьшение термостабильности в сравнении с полноразмерным белком (Koide et al., Structure-based Design of a Second-generation Lyme Disease Vaccine Based on a C-terminal Fragment of *Borrelia burgdorferi* OspA, J. Mol. Biol. (2005) 350:290-299). По данному изобретению, последовательность С-концевого домена *B. burgdorferi* s.s. B31 OspA была проанализирована *in silico* с целью определения положения для введенных дисульфидных мостиков, которые могут увеличивать стабильность складки данного С-концевого домена. Результаты анализа перенесены в гомологичные фрагменты OspA других видов *Borrelia* с предположением, что складка является консервативной для других видов.

Обычно дисульфидная связь может быть введена путем введения одного или более остатков цистеина, причем дисульфидная связь (мостик S-S) образуется между тиольными группами двух остатков цистеина. Должен быть введен только один остаток цистеина, если дисульфидная связь образуется с остатком цистеина, присутствующим во фрагменте дикого типа. Один или, предпочтительно, два остатка цистеина могут быть введены путем добавления аминокислот или, предпочтительно, замены.

Дополнительно, мутантный фрагмент OspA может содержать последующие мутации, по сравнению с диким типом. Как детально указано выше, структура и поверхностный домен OspA известны в данной области техники. Соответственно, мутантный фрагмент может содержать дополнительные мутации, в частности, в местах, которые находятся не на поверхности белка и/или не вовлечены в иммунную реакцию и, следовательно, не влияют на антигенную способность. Они могут содержать одну или более делеций аминокислот, в частности, небольшие (например, до 10 аминокислот) делеции, одну или более вставок (в частности, C- или N-концевых) аминокислот, одну или более замен аминокислот, в частности, одну или более консервативных замен аминокислот. Примеры консервативных замен аминокислот включают, без ограничений, приведенные в перечне ниже:

Ala	Ser	Leu	Ile; Val
Arg	Lys	Lys	Arg; Gln; Asn
Asn	Gln; His	Met	Leu; Ile
Asp	Glu	Phe	Met; Leu; Tyr
Cys	Ser	Ser	Thr
Gln	Asn	Thr	Ser
Glu	Asp	Trp	Tyr
His	Asn; Gln	Tyr	Trp; Phe
Ile	Leu, Val	Val	Ile; Leu

Предпочтительные мутации включают изменения в выбранных частях фрагмента, например, в тех, в которых последовательность, подобная последовательности антигена, ассоциируемого с функцией лейкоцитов человека (hLFA-1), что существует в *B. burgdorferi* s.s., модифицирована, например, заменена гомологичной последовательностью из белка OspA от другого вида *Borrelia*. Обоснованием данной модификации является уменьшение риска индукции иммунологической перекрестной реакции с человеческими белками. Также возможным обоснованием является введение сигнальной последовательности для липидации в конечный или промежуточный фрагмент или введение маркерного белка (например, с целью идентификации или очистки).

В некоторых вариантах реализации изобретения мутантный

фрагмент *OspA* содержит последовательность аминокислот, которая на 60%, предпочтительно по меньшей мере на 70%, более предпочтительно по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентична в отношении последовательности фрагменту дикого типа. В другом варианте реализации изобретения последовательность отличается самое большее на 10%, самое большее на 9%, самое большее на 8%, самое большее на 7%, самое большее на 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, наиболее предпочтительно самое большее на 1%, за счет вставки, делеции или замены в последовательности.

Идентичность, как известно в данной области техники и как применяется в данном документе, представляет собой соотношение между двумя или более последовательностей полипептида, которое определяется путем сравнения последовательностей. В данной области техники идентичность также означает степень родства между полипептидными или полинуклеотидными последовательностями, при соответствующих обстоятельствах, что определяется совпадением между лентами таких последовательностей. Идентичность может быть с легкостью вычислена. Хотя существует целый ряд способов измерения идентичности двух полинуклеотидов или двух полипептидных последовательностей, термин хорошо известен квалифицированным специалистам (например, *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987). Предпочтительные способы определения идентичности разработаны с целью обеспечения наилучшего совпадения между исследуемыми последовательностями. Способы определения идентичности кодируются в компьютерных программах. Предпочтительные способы определения идентичности между двумя последовательностями с помощью компьютерной программы включают, без ограничений, пакет программ GCG (Devereux, J. et al., 1984), BLASTP, BLASTN и FASTA (Altschul, S. et al., 1990).

В противоположность мутантному фрагменту *OspA*, «фрагмент дикого типа» в контексте данного изобретения относится к природному фрагменту *OspA* *Borrelia*. Фрагмент дикого типа

получен N-концевыми делециями, но он не содержит внутренних делеций (за исключением сигнальных последовательностей, как детально описано в данном документе) или мутаций. Относительно мутантного фрагмента OspA, фрагмент дикого типа состоит из идентичной части OspA (идентичная длина и такой же штамм OspA и тому подобное) и отличается только мутацией(ями), детально описанной(ыми) выше, в частности, введением по меньшей мере одной дисульфидной связи или заменой последовательности с человеческой гомологией, например, hLFA-1 (см. выше).

В соответствии с предпочтительным вариантом реализации данного изобретения, полипептид по данному изобретению не содержит или не состоит из полноразмерного полипептида OspA, содержащего по меньшей мере одну введенную дисульфидную связь.

В одном варианте реализации данного изобретения мутантный фрагмент OspA может отличаться от соответствующего фрагмента дикого типа только введением по меньшей мере одной, предпочтительно точно одной, дисульфидной связи.

Полипептид представляет собой единичный линейный полимер аминокислот, соединенных пептидными связями, в некоторых случаях также дисульфидными связями. В соответствии с данным изобретением, полипептид может также содержать одну или более посттрансляционных модификаций; то есть присоединенную биохимическую функциональную группу, такую как присоединенный ацетат, фосфат, липид или углерод, предпочтительно липид или липиды, присоединенные к N-концевому цистеину вместе с глицерином, более предпочтительно 1-3 C₁₄-C₂₀ алкильных или алкенильных фрагмента, еще более предпочтительно 1-3 пальмитоильных группы, наиболее предпочтительно три пальмитоильных группы (Pam₃).

В соответствии с данным изобретением, полипептид по данному изобретению содержит вышеописанный мутантный фрагмент OspA. В соответствии с данным изобретением, он не содержит (i) N-концевого листа, как определено выше, и содержит (ii) необязательно один или более дополнительных цепей центрального листа, как определено выше. Однако полипептид может содержать одну или более функциональных последовательностей, таких как

сигнальная последовательность, например, сигнальная последовательность липидации, или посттрансляционная модификация, такая как липидация.

В другом варианте реализации данного изобретения полипептид по данному изобретению состоит из (i) одного или более мутантных фрагментов OspA, необязательно соединенных линкерами, например, как определено ниже, и (ii) необязательно из одной или более аминокислот, гетерологичных по отношению к OspA, в частности, сигнальной последовательности, и (iii) необязательно из посттрансляционной модификации, такой как липидация.

Полипептид по данному изобретению имеет защитное свойство. Как детально описано выше, введение дисульфидной связи в мутантный фрагмент OspA увеличивает защитное свойство полипептида относительно полипептида, содержащего соответствующий фрагмент без дисульфидной(ых) связи(ей). В некоторых вариантах реализации изобретения защитное свойство увеличивается по меньшей мере на 10%, более предпочтительно по меньшей мере на 20%, более предпочтительно по меньшей мере на 30%, более предпочтительно по меньшей мере на 40%, более предпочтительно по меньшей мере на 50%, более предпочтительно по меньшей мере на 60%, более предпочтительно по меньшей мере на 70%, более предпочтительно по меньшей мере на 80%, еще более предпочтительно по меньшей мере на 90% относительно полипептида, содержащего соответствующий фрагмент без дисульфидной(ых) связи(ей).

Термин «защитное свойство» указывает на способность защитить субъект от инфекции *Borrelia*. Относительно полипептида по данному изобретению, защитное свойство относится к способности полипептида индуцировать иммунную реакцию, которая защищает субъект от инфекции *Borrelia*. Защитное свойство может быть проверено путем введения субъекту полипептида таким способом, чтобы индуцировать иммунную реакцию на полипептид. В последующем субъект может быть испытан с помощью *Borrelia*. Реакцию субъекта на инфекцию контролируют. В частности, может быть определено присутствие *Borrelia* в организме субъекта.

Например, полипептид обеспечивает защиту, если *Borrelia* не может быть обнаружена в организме субъекта. Присутствие *Borrelia* может быть определено путем выявления *Borrelia*-специфических нуклеиновых кислот (например, ПЛР) или *Borrelia*-специфических антител (например, ТИФА или Вестерн-блоттинг) или выявления непосредственно *Borrelia* (например, путем культивирования органов или тканей в питательной среде и микроскопической проверки присутствия *Borrelia*). В частности, защитную активность («рс»), которую регистрируют в процентном выражении, для конкретной дозы определяют, как указано ниже:

$$\text{рс (\%)} = \left[\frac{\text{общее количество протестированных субъектов} - \text{количество инфицированных } Borrelia \text{ субъектов}}{\text{общее количество протестированных субъектов}} \right] \times 100$$

Разница в защитной активности ($\Delta\text{рс}$) может быть определена, например, путем сравнения защитной активности (рс) мутантного фрагмента OspA с дисульфидной(ыми) связью(ями) (рс [со связью]) с защитной активностью фрагмента OspA без дисульфидной(ых) связи(ей) (рс [без связи]). В соответствии с данным изобретением, полипептиды, которые подлежат сравнению, отличаются только введением по меньшей мере одной дисульфидной связи. Модификацию защитной активности ($\Delta\text{рс}$) путем введения дисульфидной(ых) связи(ей) определяют следующим образом:

$$\Delta\text{рс} = (\text{рс [образец]} - \text{рс [контроль]})$$

$$\text{например, } \Delta\text{рс} = (\text{рс [со связью]} - \text{рс [без связи]})$$

Если $\Delta\text{рс}$ больше нуля (>0) и если предположить, что все другие параметры (например, доза и количественное определение) являются одинаковыми, защитная способность образца (например, мутантного фрагмента OspA с дисульфидной(ыми) связью(ями)) выше, чем защитная активность контроля (например, фрагмента OspA без дисульфидной(ых) связи(ей)). И наоборот, если $\Delta\text{рс}$ меньше нуля (<0) и если предположить, что все другие параметры (например, доза и количественное определение) являются одинаковыми, защитная активность образца (например, мутантного фрагмента OspA с дисульфидной(ыми) связью(ями)) меньше, чем защитная активность продукта сравнения (например, фрагмента

OspA без дисульфидной(ых) связи(ей)).

Предпочтительно, полипептид по данному изобретению оценивают относительно его защитной активности путем анализа нагрузки *in vivo*, в котором мышей, иммунизированных полипептидом по данному изобретению или контролем плацебо, нагружают *Borrelia*, которую вводят иммунизированным субъектам с помощью иглы для подкожных инъекций (способ нагрузки с помощью иглы), или введением клещевого переносчика (способ нагрузки с помощью клеща).

Способ нагрузки с помощью иглы осуществляют для желаемого штамма *Borrelia* (например, *B. burgdorferi*, штамм N40), подкожно вводя *Borrelia* в дозе, которая от 20 до 50 раз превышает инфекционную дозу (ID)₅₀ мышам, иммунизированным указанным первым полипептидом первого аспекта или соответствующим контролем (отрицательным) плацебо, таким как буфер или отдельно адъювант, и сравнивая скорости инфицирования в испытуемых мышях. ID₅₀ определяют как дозу, при которой инфицируются 50% испытуемых мышей. Дозу *Borrelia* измеряют как количество бактерий. Доза нагрузки может варьироваться в широком диапазоне и зависит от штамма; таким образом, сначала должна быть оценена токсичность штамма в ходе экспериментов с нагрузкой для определения ID₅₀. Через 4 недели после нагрузки с помощью иглы кровь и ткани собирают для способов считывания данных, чтобы определить инфекционный статус. Такие способы считывания данных могут представлять собой, например, VlsE ТИФА на образцах сыворотки или количественную ПЛР (кПЛР) на собранных тканях для идентификации *Borrelia*, как описано в данном документе, или другие способы.

Способ нагрузки с помощью клеща осуществляют, насаждая по меньшей мере одну куколку клеща (например, *I. ricinus*), инфицированную *Borrelia* (например, *B. afzelii*, штамм IS1), мыши, иммунизированной указанным первым полипептидом первого аспекта; и b) насаждая по меньшей мере одну инфицированную куколку клеща второй мыши, иммунизированной указанным вторым полипептидом первого аспекта; и c) сравнивая скорости инфицирования у двух мышей, в целом, 6 недель после нагрузки.

Преимущественно, анализ или тест осуществляют на группе мышей для каждого испытуемого полипептида. Пригодное испытание также описано и проиллюстрировано в Примерах. Оценка инфекционного статуса может быть осуществлена с помощью VlsE ТИФА на образцах сыворотки или кПЛР на собранных тканях, или с применением других подходящих способов.

В предпочтительном варианте реализации данного изобретения продукты по изобретению, такие как полипептиды по изобретению, содержащие мутантный фрагмент OspA с дисульфидной(ыми) связью(ями), при трехкратном введении субъекту в дозе 30 мкг, предпочтительно 10 мкг, предпочтительно 5,0 мкг, предпочтительно 1,0 мкг, предпочтительно 0,3 мкг или ниже, обладают защитной активностью на 50% или более, предпочтительно на 60% или более, более предпочтительно на 70% или более, более предпочтительно на 80% или более, более предпочтительно на 90% или более, еще более предпочтительно на 95% или более и наиболее предпочтительно на 99% или более. В одном варианте реализации изобретения защитную активность оценивают посредством способа нагрузки *in vivo*, предпочтительно способа нагрузки с помощью клеща, более предпочтительно способа нагрузки с помощью иглы, например, как описано в Примерах. Неожиданно наблюдали, что иммунизация мутантным фрагментом OspA одного серотипа может обеспечить перекрестную защиту от другого отличного серотипа (Пример 4, Таблица 4). На основании данного открытия можно предусмотреть, что доза полипептида по данному изобретению может быть еще уменьшена.

В предпочтительном варианте реализации изобретения разница в защитной активности (Δ рс) между полипептидами по изобретению, содержащими мутантный фрагмент OspA с дисульфидной(ыми) связью(ями), и контролем (отрицательным) плацебо составляет по меньшей мере 50%, в частности по меньшей мере 60%, предпочтительно по меньшей мере 70%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, еще более предпочтительно 90%, еще более предпочтительно 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 95%, при трехкратном введении субъекту в дозе 30 мкг,

предпочтительно 10 мкг, предпочтительно 5,0 мкг, предпочтительно 1,0 мкг, предпочтительно 0,3 мкг или меньше.

В предпочтительном варианте реализации данного изобретения С-концевой домен определен как фрагмент, состоящий по меньшей мере из 150 С-концевых аминокислот белка OspA. В одном варианте реализации изобретения длина С-концевого домена составляет от 140 до 152 аминокислот. В другом варианте реализации изобретения С-концевой домен состоит не более чем из последних 152 аминокислот белка OspA, предпочтительно последней 151 аминокислоты, более предпочтительно последних 150 аминокислот. В альтернативном варианте реализации изобретения С-концевой домен состоит не менее чем из последних 140 аминокислот белка OspA, предпочтительно последней 141 аминокислоты, предпочтительно последних 142 аминокислот, наиболее предпочтительно последних 143 аминокислот. Последние аминокислоты белка OspA определены в данном документе как крайняя С-концевая непрерывная последовательность аминокислот белка OspA.

В другом варианте реализации изобретения С-концевой домен белка OspA *Borrelia* содержит, в сущности состоит из или состоит из (i) аминокислот от положения 126, 131 или 130 до положения 273 OspA *B. afzelii*, штамм K78, или (ii) гомологичного домена аминокислотам OspA от штамма *Borrelia*, отличного от *B. afzelii*, штамм K78.

Полипептид по данному изобретению может содержать или в сущности состоять из или состоять из (i) одного или более таких мутантных фрагментов, необязательно соединенных линкерами, например, как определено ниже, и (ii) необязательно одной или более аминокислот, гетерологичных OspA, в частности, сигнальной последовательности или сайта для посттрансляционной модификации, такой как липидация, и (iii) необязательно посттрансляционной модификации, такой как липидация.

В соответствии с данным изобретением, полипептид по данному изобретению может содержать или в сущности состоять из или состоять из элементов, как определено в данном документе, в частности, одного или более мутантных фрагментов OspA и,

необязательно, одного или более дополнительных элементов, таких как гомологичный домен, линкерный пептид, сигнальная последовательность или сайт для липидации. «В сущности состоять» в данном контексте означает, что элемент(ы) может(гут) содержать некоторые незначительные модификации аминокислот относительно упомянутых выше последовательностей, например, вставки, замены или делеции аминокислот, что предпочтительно касаются по большей мере 10%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% аминокислот элементов, как определено в данном документе.

В соответствии с данным изобретением, по меньшей мере одна дисульфидная связь введена в фрагмент OspA. Это может предпочтительно быть достигнуто путем введения во фрагмент по меньшей мере 1 или 2 цистеинов, в частности, 2 цистеинов, для того чтобы обеспечить образование по меньшей мере одной дисульфидной связи. Только один цистеин может быть введен, если другой цистеин во фрагменте доступен для дисульфидной связи. Однако предпочтительно вводят два цистеина. Остаток(ки) цистеина вводят путем вставки или замены аминокислоты, предпочтительно замены. В случае вставки, цистеин вставляют в последовательность аминокислот между двумя аминокислотами, тогда как, в случае замены, одну аминокислоту заменяют цистеином.

В соответствии с данным изобретением, OspA может быть получен из любого штамма *Borrelia*, в частности, из указанных в данном документе, таких как *B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. andersoni*, *B. bissettii*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii*, *B. japonica*, *B. tanukii*, *B. turdi* или *B. sinica*, *B. bavariensis*, предпочтительно из *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. bavariensis* или *B. garinii*. Предпочтительно, OspA получен из *B. afzelii*, в частности, штамма K78, OspA серотипа 2 (SEQ ID NO: 19); *B. burgdorferi* s.s., в частности, штамма B31, OspA серотипа 1 (SEQ ID NO: 20); *B. garinii*, в частности, штамма PBr, OspA серотипа 3 (SEQ ID NO: 21); *B. bavariensis*, в частности, штамма PBi, OspA серотипа 4 (SEQ ID NO: 22); *B. garinii*, в частности, штамма PHei, OspA

серотипа 5 (SEQ ID NO: 23); *B. garinii*, в частности, штамма DK29, OspA серотипа 6 (SEQ ID NO: 24) или *B. garinii*, в частности, штамма T25, OspA серотипа 7 (SEQ ID NO: 25). Ниже приведены аминокислотные последовательности указанных белков OspA (полноразмерные).

Таблица А-3

Номера доступа для последовательностей *OspA* из отобранных штаммов видов *Borrelia*

Сокращения: **Baf** = *Borrelia afzelii*, **Bbu** = *Borrelia burgdorferi* s.s., **Bga** = *Borrelia garinii*, **Bsp** = *Borrelia spielmanii*, **Bbi** = *Borrelia bissettii*, **Bva** = *Borrelia valaisiana*, **Btu** = *Borrelia turicatae*, **Bdu** = *Borrelia duttonii*, **Blu** = *Borrelia lusitaniae*, **Bja** = *Borrelia japonica*, **gb** = GenBank, **emb** = EMBL, **tr** = UniProt/tremble, **sp** = UniProt/Swissprot, **prf** = Protein Research Foundation, **dbj** = DNA Databank of Japan (DDBJ), **pdb** = Protein Data Bank, **db** = база данных

Организм_штамм	db доступ. версия	Организм_штамм	db доступ. версия	Организм_штамм	db доступ. версия
Bbu_156a (серотип 1)	gb ACL33776.1	Bbu_K48	emb CAA44492.1	Bga_Mng4702	gb ABF29559.1
Baf_K78 (серотип 2)	emb CAA49828.1	Bbu_N40	gb ACS94765.1	Bga_N34	emb CAB64763.1
Bga_PBr (серотип 3)	emb CAA56549.1	Bbu_P0A3N6.1	sp P0A3N6.1	Bga_Nov1006	gb ACD02016.1
Bga_PBi (серотип 4)	emb CAA56550.1	Bbu_Pbo	emb CAA56468.1	Bga_Nov105	gb ABF29551.1
Bbu_PHei (серотип 5)	tr Q06228	Bbu_Pbre	emb CAA59742.1	Bga_Nov14506	gb ACD02013.1
Bbu_DK29 (серотип 6)	emb CAA45010.1	Bbu_Phei	emb CAA56544.1	Bga_Nov14606	gb ACD02017.1
Bga_T25 (серотип 7)	emb CAA56547.1	Bbu_Pka	emb CAA56467.1	Bga_Nov2005	gb ABF29553.1

Baf_ACA-1	gb ACJ73559.1	Bbu_Pko	emb CAA46550.1	Bga_Nov2006	gb ACD02018.1
Baf_K78	(секвенированный)	Bbu_Poti_B1	emb CAB64754.1	Bga_Nov3305	gb ABF29554.1
Baf_Khab_625	gb AAR96311.1	Bbu_Poti_B2	emb CAB64755.1	Bga_Nov405	gb ABF29552.1
Baf_Khab2-Sakh	gb AAP94134.1	Bbu_Poti_B3	emb CAB64756.1	Bga_Nov7006	gb ACD02014.1
Baf_Khab470	gb AAO91923.1	Bbu_Ptro	emb CAA56471.1	Bga_Nov9906	gb ACD02015.1
Baf_Khab505	gb AAO91925.1	Bbu_PWudl	emb CAA56469.1	Bga_PBi	gb AAT93773.1
Baf_LU192	(секвенированный, частичный)	Bbu_PWudl/6	emb CAA56470.1	Bga_PBr	emb CAA56549.1
Baf_Mng3602	gb ABF29573.1	Bbu_PWudl1	emb CAA56546.1	Bga_Q1HLH6	gb ABF29564.1
Baf_Mng4302	gb ABF29574.1	Bbu_Q04851.1	sp Q04851.1	Bga_T25	emb CAA56547.1
Baf_Mng6702	gb ABF29578.1	Bbu_Q04968.1	sp Q04968.1	Bga_TIsI	emb CAA59727.1
Baf_Mng702	gb ABF29572.1	Bbu_Q09086.1	sp Q09086.1	Bga_TN	emb CAA56545.1
Baf_Nov1105	gb ABF29569.1	Bbu_Q09087.1	sp Q09087.1	Bga_Tom1003	gb ABF29564.1
Baf_Nov11506	gb ACD02019.1	Bbu_Q44738	tr Q44738	Bga_Tom1805	gb ABF29567.1
Baf_Nov3005	gb ABF29570.1	Bbu_Q44956	emb CAA56937.1	Bga_Tom203	gb ABF29562.1
Baf_P0A3N7.1	sp P0A3N7.1	Bbu_Q44962	dbj BAA06133.1	Bga_Tom2903	gb ABF29565.1
Baf_PHo	emb CAA59724.1	Bbu_Q45039	emb CAR95556.1	Bga_Tom3005	gb ABF29568.1
Baf_PKo	gb ABH02138.1	Bbu_Q45040	tr Q45040	Bga_Tom303	gb ABF29563.1
Baf_PLe	emb CAA59970.1	Bbu_S-1-10	gb AAB96354.1	Bga_Tom3101	gb ABF29557.1
Baf_PLj7	emb CAA59725.1	Bbu_T.R.O.	emb CAA46549.1	Bga_Tom3803	gb ABF29566.1
Baf_PLud	emb CAA59726.1	Bbu_T255	emb CAA59730.1	Bga_Tom5102	gb ABF29560.1
Baf_Tom1103	gb ABF29581.1	Bbu_UK	emb CAB64758.1	Bga_Tom5202	gb ABF29561.1
Baf_Tom1303	gb ABF29582.1	Bbu_VS116	emb CAB64757.1	Bga_Tom7105	gb ABF29556.1

Baf_Tom1503	gb ABF29583.1	Bbu_VS461	emb CAA82329.1	Bga_VS100	emb CAB64765.1
Baf_Tom2303	gb ABF29584.1	Bbu_WI91-23	ref ZP_03091138.1	Bga_VS307	emb CAB64764.1
Baf_Tom2403	gb ABF29585.1	Bbu_ZQ1	emb CAA01704.1	Bga_WABSou	emb CAA59728.1
Baf_Tom2504	gb ABF29577.1	Bbu_ZS7	gb ACK74228.1	Bja_Cow611	emb CAB64759.1
Baf_Tom2803	gb ABF29586.1	Bga_BgVir-1	gb ABF29555.1	Bja_F63	emb CAB64760.1
Baf_Tom3401	gb ABF29571.1	Bga_Far04	ref ZP_03328706.1	Bja_HO14	emb CAB64762.1
Baf_Tom3703	gb ABF29587.1	Bga_FujiP2	gb AAA92301.1	Bja_IKA2	emb CAB64761.1
Baf_Tom4703	gb ABF29588.1	Bga_IP90	emb CAJ75754.1	Blu_A8D057	gb ABR22627.1
Baf_Tom5403	gb ABF29575.1	Bga_Ip90	emb CAJ75754.1	Blu_A8D060	gb ABR22625.1
Baf_Tom603	gb ABF29579.1	Bga_JEM1	gb AAB81567.1	Blu_A8D075	gb ABR22628.1
Baf_Tom6303	gb ABF29576.1	Bga_JEM2	gb AAB81569.1	Blu_A8D079	gb ABR22629.1
Baf_Tom703	gb ABF29580.1	Bga_JEM3	gb AAB81571.1	Blu_ABR22624.1	gb ABR22624.1
Baf_XJ23	gb AAB95225.1	Bga_JEM4	dbj BAA19222.1	Blu_ABR22626.1	gb ABR22626.1
Bbu_118a	ref ZP_02720644.1	Bga_JEM5	gb AAB81573.1	Bsp_A14S	gb AAD16455.1
Bbu_156a	gb ACL33776.1	Bga_JEM6	gb AAB81575.1	Btu_Ya501	dbj BAA32513.1
Bbu_19857	emb CAA48196.1	Bga_JEM7	gb AAB81577.1	Bva_AR-2	gb AAF00571.1
Bbu_2005348A	prf 2005348A	Bga_JEM8	gb AAB81579.1	Bva_M19	gb AAF00573.1
Bbu_2005348B	prf 2005348B	Bga_Khab3155	gb AAR96310.1	Bva_M49	gb AAF00574.1
Bbu_297	emb CAA59729.1	Bga_Khab550	gb AAR96306.1	Bva_M52	gb AAF00575.1
Bbu_29805	ref ZP_03092996.1	Bga_Khab616	gb AAR96307.1	Bva_M53	gb AAF00576.1
Bbu_64b	ref ZP_03097520.1	Bga_Khab648	gb AAR96308.1	Bva_M7	gb AAF00572.1
Bbu_72a	ref ZP_02724465.1	Bga_Khab722	gb AAR96309.1	Bva_Q9RM88	emb CAB56150.1
Bbu_80a	ref ZP_03088001.1	Bga_Khab23	gb AAP94125.1	Bva_QLZSP1	gb ACA13516.1

Bbu_94a	ref ZP_02725946.1	Bga_Khab24	gb AAP94126.1	Bva_QSDS4	gb ACA13517.1
Bbu_AAB23809.1	gb AAB23809.1	Bga_Khab31	gb AAP94127.1	Bva_QSYSP3	gb ACA13518.1
Bbu_AAB23810.1	gb AAB23810.1	Bga_Khab31a	gb AAP94128.1	Bva_QSYSP4	gb ACA13519.1
Bbu_B29	gb AAA18508.1	Bga_Khab-466	gb AAP94129.1	Bva_QTMP2	gb ACA13520.1
Bbu_B31	gb AAC66260.1	Bga_Khab489	gb AAP94130.1	Bva_QX-S13	gb ACA13521.1
Bbu_Bol26	ref ZP_02531917.1	Bga_Khab5-Sakh	gb AAO91932.1	Bva_UK	gb AAF00570.1
Bbu_C-1-11	gb AAB96351.1	Bga_Khab506	gb AAP94132.1	Bva_VS116	gb AAF00569.1
Bbu_CA-11.2a_1	ref ZP_03094587.1	Bga_Khab516	gb AAP94133.1	Bsp_10MT	dbj BAA32516.1
Bbu_CA-11.2a_2	ref ZP_03094587.1	Bga_Khab721	gb AAP94131.1	Bsp_5MT	dbj BAA32515.1
Bbu_CA-11.2a_ CA-112a	ref ZP_03094587.1	Bga_Khab2119	gb AAO91928.1	Bsp_Am501	dbj BAA32514.1
Bbu_CAA00316.1	emb CAA00316.1	Bga_Khab2559	gb AAO91929.1	Bsp_LV5	gb AAB96353.1
Bbu_CAA42842.1	emb CAA42842.1	Bga_Khab2560	gb AAO91930.1	Bsp_PAnz	emb CAJ43585.1
Bbu_CAA44258.1	emb CAA44258.1	Bga_Khab2594	gb AAO91931.1	Bsp_PHaP_PHap	emb CAJ43582.1
Bbu_CAR95597.1	emb CAR95597.1	Bga_Khab430	gb AAO91919.1	Bsp_PJes	emb CAJ43586.1
Bbu_DK1	gb AAA22955.1	Bga_Khab448	gb AAO91920.1	Bsp_PMai	emb CAJ43584.1
Bbu_DK29	emb CAA45010.1	Bga_Khab457	gb AAO91921.1	Bsp_PMew	emb CAJ43583.1
Bbu_DK6_Danish_ isolate	emb CAA58601.1	Bga_Khab468	gb AAO91922.1	Bsp_PSigII	emb CAJ43581.1
Bbu_G2	gb AAA88846.1	Bga_Khab492	gb AAO91924.1	Bsp_SV1	ref ZP_03095680.1
Bbu_G25	emb CAA82328.1	Bga_Khab511	gb AAO91926.1	Bbi_25015	gb AAB21761.1
Bbu_H.E.	emb CAA46551.1	Bga_Khab560	gb AAO91927.1	Bbi_DN127	emb CAB64766.1
Bbu_HB19	gb AAC18776.1	Bga_LV4	gb AAB96352.1	Bbi_Q09087.1	gb AAB21761.1

В соответствии с данным изобретением, дисульфидная связь может быть образована между остатками цистеина, которые введены в каком-нибудь положении фрагмента OspA, что позволяет или обеспечивает надлежащее свертывание фрагмента. Положения могут быть выбраны, как детально указано выше, на основании известной структуры OspA. В предпочтительном варианте реализации изобретения полипептид по данному изобретению содержит по меньшей мере одну дисульфидную связь между любым из положений 182±3 и любым из положений 269±3 (тип дисульфидной связи 1); любым из положений 182±3 и любым из положений 272±3 (тип дисульфидной связи 2); любым из положений 244±3 и любым из положений 259±3 (тип дисульфидной связи 3); любым из положений 141±3 и любым из положений 241±3 (тип дисульфидной связи 4); любым из положений 165±3 и любым из положений 265±3 (тип дисульфидной связи 5); любым из положений 185±3 и любым из положений 272±3 (тип дисульфидной связи 6); любым из положений 199±3 и любым из положений 223±3 (тип дисульфидной связи 7); любым из положений 243±3 и любым из положений 262±3 (тип дисульфидной связи 8); любым из положений 184±3 и любым из положений 204±3 (тип дисульфидной связи 9); любым из положений 201±3 и любым из положений 214±3 (тип дисульфидной связи 10); любым из положений 246±3 и любым из положений 259±3 (тип дисульфидной связи 11); и/или любым из положений 167±3 и любым из положений 178±3 (тип дисульфидной связи 12) *B. afzelii*, в частности, *B. afzelii* K78 серотип 2 OspA, или гомологичными аминокислотами OspA из вида *Borrelia*, отличных от *B. afzelii*, например, *B. burgdorferi* s.s., в частности, штамм B31, серотип 1; *B. garinii*, в частности, штамм PBr, серотип 3; *B. bavariensis*, в частности, штамм PBi, серотип 4; *B. garinii*, в частности, штамм PHei, серотип 5; *B. garinii*, в частности, штамм DK29, серотип 6, или *B. garinii*, в частности, штамм T25, серотип 7.

В частности, полипептид по данному изобретению содержит по

меньшей мере одну дисульфидную связь между любым из положений 182 и 269 (тип дисульфидной связи 1); положений 182 и 272 (тип дисульфидной связи 2); положений 244 и 259 (тип дисульфидной связи 3); положений 141 и 241 (тип дисульфидной связи 4); положений 165 и 265 (тип дисульфидной связи 5); положений 185 и 272 (тип дисульфидной связи 6); положений 199 и 223 (тип дисульфидной связи 7); положений 243 и 262 (тип дисульфидной связи 8); положений 184 и 204 (тип дисульфидной связи 9); положений 201 и 214 (тип дисульфидной связи 10); положений 246 и 259 (тип дисульфидной связи 11); и/или положений 167 и 178 (тип дисульфидной связи 12) *B. afzelii*, в частности, *B. afzelii* K78 серотип 2 OspA, или гомологичными аминокислотами OspA из *Borrelia*, отличной от *B. afzelii*, например, *B. burgdorferi* s.s., в частности, штамм B31, серотип 1; *B. garinii*, в частности, штамм PBr, серотип 3; *B. bavariensis*, в частности, штамм PBi, серотип 4; *B. garinii*, в частности, штамм PHei, серотип 5; *B. garinii*, в частности, штамм DK29, серотип 6, или *B. garinii*, в частности, штамм T25, серотип 7.

Таблица А-4

Типы дисульфидной связи с номенклатурой и положением замен цистеина в белке OspA серотипа 2

Тип дисульфидной связи	Номенклатура	Положения остатков цистеина в <i>B. afzelii</i> K78, серотип 2 OspA
Последовательность дикого типа	D0	Цистеиновые замены отсутствуют
1	D1	182 и 269
2	D2	182 и 272
3	D3	244 и 259
4	D4	141 и 241
5	D5	165 и 265
6	D6	185 и 272
7	D7	199 и 223
8	D8	243 и 262
9	D9	184 и 204

10	D10	201 и 214
11	D11	246 и 259
12	D12	167 и 178

Еще более предпочтительными являются типы дисульфидной связи 1–5, в частности, типы дисульфидной связи 1–4.

Следует отметить, что:

Положение 182 ± 3 представляет собой сокращение для положения 179, 180, 181, 182, 183, 184 или 185, предпочтительно 182.

Положение 269 ± 3 представляет собой сокращение для положения 266, 267, 268, 269, 270, 271 или 272, предпочтительно 269.

Положение 272 ± 3 представляет собой сокращение для положения 269, 270, 271, 272, 273, 274 или 275, предпочтительно 272.

Положение 244 ± 3 представляет собой сокращение для положения 241, 242, 243, 244, 245, 246 или 247, предпочтительно 244.

Положение 259 ± 3 представляет собой сокращение для положения 256, 257, 258, 259, 260, 261 или 262, предпочтительно 259.

Положение 141 ± 3 представляет собой сокращение для положения 138, 139, 140, 141, 142, 143 или 144, предпочтительно 141.

Положение 241 ± 3 представляет собой сокращение для положения 238, 239, 240, 241, 242, 243 или 244, предпочтительно 241.

Положение 165 ± 3 представляет собой сокращение для положения 162, 163, 164, 165, 166, 167 или 168, предпочтительно 165.

Положение 265 ± 3 представляет собой сокращение для положения 262, 263, 264, 265, 266, 267 или 268, предпочтительно 265.

Положение 185 ± 3 представляет собой сокращение для положения 182, 183, 184, 185, 186, 187 или 188, предпочтительно 185.

Положение 199 ± 3 представляет собой сокращение для положения 196, 197, 198, 199, 200, 201 или 202, предпочтительно 199.

Положение 223 ± 3 представляет собой сокращение для положения 220, 221, 222, 223, 224, 225 или 226, предпочтительно 223.

Положение 243 ± 3 представляет собой сокращение для положения 240, 241, 242, 243, 244, 245 или 246, предпочтительно 143.

Положение 262 ± 3 представляет собой сокращение для положения

259, 260, 261, 262, 263, 264 или 265, предпочтительно 262.

Положение 184±3 представляет собой сокращение для положения 181, 182, 183, 184, 185, 186 или 187, предпочтительно 184.

Положение 204±3 представляет собой сокращение для положения 201, 202, 203, 204, 205, 206 или 207, предпочтительно 204.

Положение 201±3 представляет собой сокращение для положения 198, 199, 200, 201, 202, 203 или 204, предпочтительно 201.

Положение 214±3 представляет собой сокращение для положения 211, 212, 213, 214, 215, 216 или 217, предпочтительно 214.

Положение 246±3 представляет собой сокращение для положения 243, 244, 245, 246, 247, 248 или 249, предпочтительно 246.

Положение 167±3 представляет собой сокращение для положения 164, 165, 166, 167, 168, 169 или 170, предпочтительно 167.

Положение 178±3 представляет собой сокращение для положения 175, 176, 177, 178, 179, 180 или 181, предпочтительно 178.

В предпочтительном варианте реализации изобретения мутантный фрагмент получен из аминокислот от положения 126, 130 или 131 до положения 273 последовательности дикого типа *OspA B. afzelii*, штамм K78, серотип 2 (SEQ ID NO: 18), и отличается только введением по меньшей мере одной дисульфидной связи, причем, в частности, по меньшей мере одна дисульфидная связь расположена между положениями 182 и 269 (тип дисульфидной связи 1); положениями 182 и 272 (тип дисульфидной связи 2); положениями 244 и 259 (тип дисульфидной связи 3); положениями 141 и 241 (тип дисульфидной связи 4); положениями 165 и 265 (тип дисульфидной связи 5); положениями 185 и 272 (тип дисульфидной связи 6); положениями 199 и 223 (тип дисульфидной связи 7); положениями 243 и 262 (тип дисульфидной связи 8); положениями 184 и 204 (тип дисульфидной связи 9); положениями 201 и 214 (тип дисульфидной связи 10); положениями 246 и 259 (тип дисульфидной связи 11); и/или положениями 167 и 178 (тип дисульфидной связи 12), или гомологичными фрагментами и положениями *OspA* из вида *Borrelia*, отличного от *B. afzelii*, например, *B. burgdorferi* s.s., в частности, штамм B31, серотип 1; *B. garinii*, в частности, штамм PBr, серотип 3; *B. bavariensis*, в частности, штамм PBi, серотип

4; *B. garinii*, в частности, штамм PHei, серотип 5; *B. garinii*, в частности, штамм DK29, серотип 6 или *B. garinii*, в частности, штамм T25, серотип 7.

В еще более предпочтительном варианте реализации изобретения мутантный фрагмент содержит последовательность аминокислот, выбранную из группы, которая состоит из SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, и последовательность аминокислоты, которая на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности по меньшей мере одной из последовательностей из SEQ ID NO: 2-13, в которых остатки цистеина не заменены. Дополнительные подробности относительно мутаций и идентичности последовательностей приведены выше.

Как детально описано выше, полипептид по данному изобретению может содержать сигнальные последовательности. Продемонстрировано, что липидация предоставляет OspA полезные свойства. Соответственно, предпочтительными являются липидированные формы полипептида по изобретению или полипептиды, которые содержат сигнал липидации. В предпочтительном варианте реализации изобретения полипептид по данному изобретению содержит сигнал липидации, предпочтительно сигнал липидации внешнего поверхностного белка *Borrelia*, OspA или OspB (SEQ ID NO: 14 и 15, соответственно), или, более предпочтительно, сигнальную последовательность липидации lpp *E. coli* (SEQ ID NO: 16). Фрагмент OspA по данному изобретению, содержащий сигнал липидации, липидируется в ходе процессинга, и сигнальный пептид липидации отщепляется. Таким образом, сигнальный пептид отсутствует в зрелом липидированном белке.

Липидированные белки, в соответствии с данным изобретением, мечены «Lip» на N-конце, что указывает на введение 3 жирнокислотных групп и глицерина в полипептид (см. Фиг. 4). Подходящие сигналы липидации, как изложено выше, включают последовательности MKKYLLGIGLILALIA (SEQ ID NO: 14), MRLIGFALALALIG (SEQ ID NO: 15) и MKATKLVLGAVILGSTLLAG (SEQ ID

NO: 16). Поскольку липидные фрагменты и глицерин присоединены к N-концевому остатку цистеина, который присутствует в полноразмерном белке OspA дикого типа, C-концевые фрагменты OspA для липидации могут дополнительно содержать пептид, содержащий остаток цистеина, со следующими дополнительными аминокислотами, что в данном документе обозначено как «липидация пептида» или «ЛП» (см. Фиг. 1 и 2). Например, такие последовательности, как CSS или CKQN (SEQ ID NO: 211), которые являются непосредственно C-концевыми по отношению к сигнальной последовательности липидации, обеспечивают N-концевой остаток цистеина для липидации при отщеплении сигнального пептида липидации. Липидированные пептиды, содержащие цистеин, присутствуют в конечном липидированном полипептиде по данному изобретению.

Выявлено, что белок OspA *B. burgdorferi* s.s. содержит последовательность со активностью для связи с рецептором Т-клеток, который также обладает активностью для связи с антигеном, ассоциируемым с функцией лейкоцитов у человека (hLFA-1) (в данном описании также обозначен как «hLFA-1-подобная последовательность»). Подобие данного участка OspA к hLFA-1 может привести к иммунной реакции с перекрестной реактивностью при введении *B. burgdorferi* s.s. OspA субъекту-человеку и может индуцировать аутоиммунные заболевания, в частности, аутоиммунный артрит, у чувствительных индивидуумов. Соответственно, в предпочтительном варианте реализации полипептид по данному изобретению не содержит последовательности со активностью связывания с рецептором Т-клеток, что обладает способностью связывания с антигеном, ассоциируемым с функцией лейкоцитов человека (hLFA-1), и, в частности, не содержит последовательности аминокислот GYVLEGTLTAE (SEQ ID NO: 17). В связи с этим hLFA-1-подобная последовательность, в частности, последовательность аминокислот GYVLEGTLTAE (SEQ ID NO: 17), может быть заменена гомологичной последовательностью из белка OspA другого вида *Borrelia*, включая NFTLEGKVAND (SEQ ID NO: 18).

В предпочтительном варианте реализации изобретения полипептид по данному изобретению, содержащий по меньшей мере одну дисульфидную связь, в сущности, проявляет такую же защитную

активность, что и указанный полипептид, против инфекции *Borrelia* относительно по меньшей мере одного полноразмерного белка OspA дикого типа, который получен по меньшей мере из одного штамма *Borrelia*, в частности, *B. afzelii* K78, OspA серотипа 2 (SEQ ID NO: 19); *B. burgdorferi* s.s., в частности, штамм B31, серотип 1 (SEQ ID NO: 20); *B. garinii*, в частности, штамм PBr, серотип 3 (SEQ ID NO: 21); *B. bavariensis*, включая штамм PBi, серотип 4 (SEQ ID NO: 22); *B. garinii*, в частности, штамм PHei, серотип 5 (SEQ ID NO: 23); *B. garinii*, в частности, штамм DK29, серотип 6 (SEQ ID NO: 24) или *B. garinii*, в частности, штамм T25, серотип 7 (SEQ ID NO: 25).

Для того чтобы обеспечить перекрестную защиту против разных видов *Borrelia* или серотипов OspA, желательной является разработка поливалентной вакцины. Соответственно, в другом предпочтительном варианте реализации изобретения полипептид, в соответствии с первым аспектом изобретения, содержит по меньшей мере два мутантных фрагмента из двух разных серотипов *Borrelia*, как определено выше. В предпочтительном варианте реализации изобретения полипептид, в соответствии с первым аспектом изобретения, содержит по меньшей мере два мутантных фрагмента OspA, выбранных из группы, которая состоит из:

фрагмента с типом дисульфидной связи 1 и фрагмента с типом дисульфидной связи 2;

фрагмента с типом дисульфидной связи 1 и фрагмента с типом дисульфидной связи 3;

фрагмента с типом дисульфидной связи 1 и фрагмента с типом дисульфидной связи 4;

фрагмента с типом дисульфидной связи 1 и фрагмента с типом дисульфидной связи 5;

фрагмента с типом дисульфидной связи 1 и фрагмента с типом дисульфидной связи 6;

фрагмента с типом дисульфидной связи 1 и фрагмента с типом дисульфидной связи 7;

фрагмента с типом дисульфидной связи 1 и фрагмента с типом дисульфидной связи 8;

фрагмента с типом дисульфидной связи 1 и фрагмента с типом

дисульфидной связи 11;

фрагмента с типом дисульфидной связи 9 и фрагмента с типом дисульфидной связи 12;

фрагмента с типом дисульфидной связи 10 и фрагмента с типом дисульфидной связи 11;

фрагмента с типом дисульфидной связи 10 и фрагмента с типом дисульфидной связи 12;

фрагмента с типом дисульфидной связи 11 и фрагмента с типом дисульфидной связи 12;

и

где, в частности,

фрагмент с типом дисульфидной связи 1 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 2, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 2 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 3 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 3, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 3 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 4 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 4, в которой остатки цистеину не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 4 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 5 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на

90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 5, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 5 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 6 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 6, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 6 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 7 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 7, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 7 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 8 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 8, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 8 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 9 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 9, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 9 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 10 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной

последовательности SEQ ID NO: 10, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 10 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 11 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 11, в которой остатки цистеина не заменены;

фрагмент с типом дисульфидной связи 11 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 12 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 12, в которой остатки цистеина не заменены; и/или

фрагмент с типом дисульфидной связи 12 содержит последовательность аминокислот SEQ ID NO: 13 или последовательность аминокислот, которая является по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 85%, более предпочтительно на 90%, еще более предпочтительно на 95% идентичной последовательности SEQ ID NO: 13, в которой остатки цистеина не заменены.

Дополнительные подробности относительно мутаций и идентичности последовательностей приведены выше.

Таблица А-5

Номенклатура и SEQ ID NO гетеродимеров мутантного фрагмента OspA, нелипидированных и липидированных, раскрыты в данном изобретении

Гетеродимер мутантного фрагмента OspA*	SEQ ID NO:	Липидированный гетеродимер мутантного фрагмента OspA*	SEQ ID NO:
S1D4-S2D4	43	Lip-S1D4-S2D4	185
S1D1-S2D1	47	Lip-S1D1-S2D1	186
S3D4-S4D4	51	Lip-S3D4-S4D4	187

S3D1-S4D1	55	Lip-S3D1-S4D1	188
S5D4-S6D4	59	Lip-S5D4-S6D4	189
S5D1-S6D1	63	Lip-S5D1-S6D1	190
S2D4-S1D4	67	Lip-S2D4-S1D4	191
S2D1-S1D1	71	Lip-S2D1-S1D1	192
S4D4-S3D4	75	Lip-S4D4-S3D4	193
S4D1-S3D1	79	Lip-S4D1-S3D1	194
S6D4-S5D4	83	Lip-S6D4-S5D4	195
S6D1-S5D1	87	Lip-S6D1-S5D1	196
S1D4-S2D1	91	Lip-S1D4-S2D1	197
S1D1-S2D4	95	Lip-S1D1-S2D4	198
S3D4-S4D1	99	Lip-S3D4-S4D1	199
S3D1-S4D4	103	Lip-S3D1-S4D4	200
S5D4-S6D1	107	Lip-S5D4-S6D1	201
S5D1-S6D4	111	Lip-S5D1-S6D4	202
S2D4-S1D1	115	Lip-S2D4-S1D1	203
S2D1-S1D4	119	Lip-S2D1-S1D4	204
S4D4-S3D1	123	Lip-S4D4-S3D1	205
S4D1-S3D4	127	Lip-S4D1-S3D4	206
S6D4-S5D1	131	Lip-S6D4-S5D1	207
S6D1-S5D4	135	Lip-S6D1-S5D4	208

*S = серотип (1-6) (см. Таблицу А-2); D = дисульфидный тип связи (см. Таблицу А-4);

Lip = липидация: N-концевое введение остатков глицерина и жирных кислот.

В другом предпочтительном варианте реализации изобретения полипептид, в соответствии с первым аспектом изобретения, содержит по меньшей мере два или три мутантных фрагмента, которые соединены с помощью одного или более линкеров. Линкер представляет собой, скорее, короткую последовательность аминокислот, применяемую для соединения двух фрагментов. Ее нужно сконструировать во избежание какого-либо отрицательного влияния на фрагменты, а также с целью их взаимодействия в организме субъектов, которые получают лечение или прививку, или их защитную активность. Предпочтительными являются короткие

линкеры длиной не более 21 аминокислоты, в частности, не более 15 аминокислот, в частности не более 12 или 8 аминокислот. Более предпочтительно, один или более линкеров состоят из аминокислот небольшого размера для того, чтобы уменьшить или минимизировать взаимодействие с фрагментами, такими как глицин, серин и аланин. Примеры или предпочтительные линкеры включают линкеры, содержащие или состоящие из поли-G, таких как (G)₈ (SEQ ID NO: 36) (G)₁₂ (SEQ ID NO: 37), GAGA (SEQ ID NO: 38), (GAGA)₂ (SEQ ID NO: 39), (GAGA)₃ (SEQ ID NO: 40), (GGGS)₂ (SEQ ID NO: 41) или (GGGS)₃ (SEQ ID NO: 42). Более предпочтительным линкером является пептидный линкер «LN1», слияние двух отдельных петлевых участков N-концевой половины OspA от *B. burgdorferi* s.s., штамм B31 (ак 65-74 и ак 42-53, с обменом аминокислот в положении 53 D53S), который содержит следующую последовательность: GTSDKNNNGSGSKEKNKDGKYS (SEQ ID NO: 184).

В другом предпочтительном варианте реализации изобретения полипептид, в соответствии с первым аспектом изобретения, содержит полипептид с полным размером не более 500 аминокислот, содержащих два или три разных мутантных фрагмента, как определено в предпочтительных вариантах реализации первого аспекта изобретения; или полипептид, который состоит, в сущности, из двух или трех разных мутантных фрагментов, одного или двух линкеров и, необязательно, N-концевого цистеина; и/или полипептид, который, в сущности, состоит из двух или трех разных мутантных фрагментов, N-концевого продолжения фрагмента, который состоит не более чем из 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12 или 11 аминокислот, предпочтительно не более чем из 10, 9, 8, 7 или 6 аминокислот, еще более предпочтительно не более чем из 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислоты, причем N-концевое продолжение расположено непосредственно в N-концевом положении по отношению к фрагменту в соответствующем OspA *Borrelia*, и, необязательно, N-концевого цистеина. За N-концевым цистеином необязательно может следовать короткий пептидный линкер длиной 1-10 аминокислот, который предпочтительно приобретает форму N-концевого пептида CSS или пептида CKQN (SEQ ID NO: 211).

Во втором аспекте данное изобретение относится к нуклеиновой

кислоте, кодирующей полипептид в соответствии с первым аспектом изобретения.

В данном изобретении дополнительно предлагается нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид по данному изобретению. В контексте данного изобретения термин «нуклеиновая(ые) кислота(ы)» в целом означает любой полирибонуклеотид или полидезоксирибонуклеотид, который может представлять собой немодифицированную РНК или ДНК или модифицированную РНК или ДНК, включая одноцепочечные и двухцепочечные участки/формы.

Термин «нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид» в данном документе охватывает полинуклеотиды, которые содержат последовательность, кодирующую пептид или полипептид по данному изобретению. Данный термин также охватывает полинуклеотиды, которые содержат единственный непрерывный участок или перемежающиеся участки, которые кодируют пептид или полипептид (например, полинуклеотиды, которые перемежаются интегрированным фагом, интегрированной вставочной последовательностью, интегрированной последовательностью вектора, интегрированной последовательностью транспозона или в результате «редактирования» РНК или реорганизации геномной ДНК), вместе с дополнительными участками, которые также могут содержать кодирующие и/или не кодирующие последовательности.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что в результате вырожденности генетического кода существуют многочисленные последовательности нуклеотидов, которые кодируют полипептид, как раскрыто в данном документе. Некоторые из указанных полинуклеотидов владеют минимальным подобием с нуклеотидной последовательностью любого природного (то встречающегося в природе) гена. Несмотря на это, полинуклеотиды, модифицированные за счет отличий в применении кодонов, конкретно включены в данное изобретение, например, полинуклеотиды, оптимизированные для селекции кодонов человека и/или примата и/или *E. coli*.

Последовательности, кодирующие желаемый полипептид, могут быть синтезированы, полностью или частично, с применением химических способов, хорошо известных в данной области техники

(см. Caruthers, M. H. et al., Nucl. Acids Res. Symp. Ser. pp. 215-223 (1980), Horn et al., Nucl. Acids Res. Symp. Ser. pp. 225-232 (1980)). Альтернативно, белок может быть непосредственно продуцируем с применением химических способов синтеза аминокислотной последовательности полипептида или ее части. Например, синтез пептида может быть осуществлен с применением разнообразных твердо-фазовых методов (Roberge et al., Science 269:202-204 (1995)), и автоматизированный синтез может быть обеспечен, например, путем применения синтезатора пептидов ASI 431 (Perkin Elmer, Пало-Альта, Калифорния).

Дополнительно, полинуклеотидные последовательности по данному изобретению могут быть сконструированы с применением способов, общеизвестных в данной области техники, для модификации кодирующих полипептид последовательностей по разнообразным причинам, включая, без ограничений, модификации, которые изменяют клонирование, процессинг и/или экспрессию продукта гена. Например, перетасовка ДНК путем случайного фрагментирования и вторичная сборка с помощью ПЛР фрагментов гена и синтетических олигонуклеотидов могут быть применены для создания нуклеотидных последовательностей. Кроме того, сайт-направленный мутагенез может быть применен для вставки новых рестрикционных сайтов, модификации типов гликозирования, изменения преференции кодонов, продуцирования соединенных вариантов или мутаций ввода и т. д.

В другом аспекте данное изобретение относится к вектору, содержащему нуклеиновую кислоту по данному изобретению, соединенную с индуцибельным промотором таким образом, что в случае индукции промотора экспрессируется полипептид, кодируемый нуклеиновой кислотой. В предпочтительном варианте реализации изобретения вектор представляет собой pET28b(+).

Последующий аспект изобретения включает указанный вектор, причем индуцибельный промотор активируется добавлением достаточного количества ИПТГ (изопропил β -D-1-тиогалактопиранозид), предпочтительно к питательной среде. Необязательно, добавления осуществляют в концентрации от 0,1 до

10 мМ, от 0,1 до 5 мМ, от 0,1 до 2,5 мМ, от 0,2 до 10 мМ, от 0,2 до 5 мМ, от 0,2 до 2,5 мМ, от 0,4 до 10 мМ, от 1 до 10 мМ, от 1 до 5 мМ, от 2,5 до 10 мМ, от 2,5 до 5 мМ, от 5 до 10 мМ. Альтернативно, промотор может быть индуцируемым изменением температуры или pH.

«Молекула нуклеиновой кислоты» в данном документе в целом означает любую молекулу рибонуклеиновой кислоты или молекулу дезоксирибонуклеиновой кислоты, которая может представлять собой немодифицированную РНК или ДНК или модифицированную РНК или ДНК. Таким образом, например, молекула нуклеиновой кислоты в данном документе означает по меньшей мере одно- и двухцепочечную ДНК, гибридные молекулы, содержащие ДНК и РНК, которые могут быть одноцепочечными или, чаще, двухцепочечными, или смесь одно- и двухцепочечных участков. В данном документе термин «молекула нуклеиновой кислоты» охватывает молекулы ДНК или РНК, как изложено выше, которые содержат одну или более модифицированных основ. Таким образом, молекулы ДНК или РНК с основами, модифицированными для стабильности или по другим причинам, представляют собой «молекулы нуклеиновой кислоты» в соответствии с пониманием данного термина в данном документе. Кроме того, типы ДНК или РНК, которые содержат нетрадиционные основы, такие как инозин, или модифицированные основы, такие как тритилированные основы, и это только два примера, также являются молекулами нуклеиновой кислоты, как определено в данном документе. Следует понимать, что большое разнообразие модификаций, осуществленных в молекулах ДНК и РНК, которые служат многочисленным соответствующим целям, известны специалистам в данной области техники. Термин «молекула нуклеиновой кислоты» в данном документе охватывает такие химически, ферментно или метаболически модифицированные формы молекул нуклеиновой кислоты, а также химические формы ДНК и РНК, характерные для вирусов и клеток, среди прочего, в частности, простых и сложных клеток. Термин «молекула нуклеиновой кислоты» также охватывает короткие молекулы нуклеиновой кислоты, которые часто обозначаются как олигонуклеотид(ы). В данном документе термины «полинуклеотид» и «нуклеиновая кислота» или «молекула

нуклеиновой кислоты» применяют равнозначным образом.

Нуклеиновые кислоты, в соответствии с данным изобретением, могут быть химически синтезированными. Альтернативно, нуклеиновые кислоты могут быть выделены из *Borrelia* и модифицированы с помощью способов, известных специалисту в данной области техники. То же самое касается полипептидов по данному изобретению.

Дополнительно, нуклеиновая кислота по данному изобретению может быть функционально соединенной, с применением стандартных способов, таких как клонирование, с какой-нибудь желаемой последовательностью(ями), или регуляторной последовательностью *Borrelia*, или гетерологичной регуляторной последовательностью, гетерологичной лидерной последовательностью, гетерологичной последовательностью маркера или гетерологичной последовательностью кодировки, с образованием слитого гена.

Молекулы нуклеиновых кислот по данному изобретению могут существовать в форме РНК, например, мРНК или кРНК, или в форме ДНК, включая, например, кДНК и геномной ДНК, полученной клонированием или продуцируемой методами химического синтеза или их комбинацией. ДНК может быть трехцепочечной, двухцепочечной или одноцепочечной. Одноцепочечная ДНК может представлять собой кодирующую цепь, также известную как смысловая цепь, или может представлять собой не кодирующую цепь, также обозначенную как антисмысловая цепь.

Нуклеиновая кислота по данному изобретению может быть введена в вектор или клетки. Вектор может содержать вышеупомянутую нуклеиновую кислоту таким образом, что вектор является репликательным и может экспрессировать белок, кодируемый последовательностью нуклеотида, в клетке-хозяине.

Для рекомбинантного продуцирования полипептидов по данному изобретению клетки-хозяева могут быть генетически сконструированы для инкорпорации систем экспрессии или их частей или нуклеиновой кислоты по данному изобретению. Введение нуклеиновой кислоты в клетку-хозяина может осуществляться способами, раскрытыми во многих стандартных лабораторных пособиях, таких как Davis, et al., BASIC METHODS IN MOLECULAR

BIOLOGY, (1986) и Sambrook, et al., MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989), такими как трансфекция кальция фосфатом, опосредованная ДЭАЭ-декстраном трансфекция, трансфекция, микроинъекция, опосредованная катионным липидом трансфекция, электропорация, конъюгация, трансдукция, введение при соскребании, баллистическое введение и инфекция.

Характерные примеры подходящих хозяев включают клетки грамотрицательных бактерий, такие как клетки *E. coli*, *Acinetobacter*, *Actinobacillus*, *Bordetella*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Cyanobacteria*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Franciscella*, *Helicobacter*, *Hemophilus*, *Klebsiella*, *Legionella*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Pasteurella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Treponema*, *Vibrio*, *Yersinia*. В одном варианте реализации изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку *Escherichia coli*. В предпочтительном варианте реализации изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку *E. coli* BL21 (DE3) или клетку *E. coli* BL21 Star™ (DE3).

Альтернативно, также могут быть применены клетки грамположительных бактерий. Большое разнообразие систем экспрессии может применяться для продуцирования полипептидов по данному изобретению. В одном варианте реализации изобретения вектор получен из бактериальных плазмид. В целом, любая система или вектор, подходящие для поддержки, разведения или экспрессии полинуклеотидов и/или экспрессии полипептида в хозяине, может быть применена для экспрессии в этом отношении. Пригодная последовательность ДНК может быть вставлена в систему экспрессии любым из разнообразных известных и стандартных способов, таких как, например, сформулированные в Sambrook et al., MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL (выше).

В одном варианте реализации данного изобретения клетки выращивают в условиях селекционного давления, например, в присутствии антибиотиков, предпочтительно канамицина. В другом варианте реализации изобретения клетки выращивают при отсутствии антибиотиков.

Большое разнообразие векторов экспрессии может применяться

для экспрессии полипептидов в соответствии с данным изобретением. В целом, любой вектор, подходящий для содержания, разведения или экспрессии нуклеиновых кислот с целью экспрессии полипептида в организме хозяина, может быть применен для экспрессии в этом отношении. В соответствии с данным аспектом изобретения, вектор может быть, например, плазмидным вектором, одно- или двухцепочечным вектором фага, или одно- или двухцепочечным РНК или ДНК вирусным вектором. Стартовые плазмиды, раскрытые в данном документе, являются коммерчески доступными, публично доступными или могут быть образованы из доступных плазмид стандартным применением известных, опубликованных методик. Предпочтительными среди векторов, в определенных отношениях, являются векторы для экспрессии молекул нуклеиновых кислот и полипептидов в соответствии с данным изобретением. Конструкты нуклеиновых кислот в клетках-хозяевах могут применяться в обычной форме с целью продуцирования генного продукта, кодируемого рекомбинантной последовательностью. Альтернативно, полипептиды, в соответствии с данным изобретением, могут быть синтетически продуцируемы обычными синтезаторами пептидов.

Дополнительно, данное изобретение относится к клетке-хозяину, которая содержит указанный вектор. Характерные примеры подходящих клеток-хозяев включают бактерии, такие как стрептококки, стафилококки, *E. coli*, *Streptomyces* и *Bacillus subtilis*; грибы, такие как дрожжи и *Aspergillus*; клетки насекомых, такие как клетки *Drosophila* S2 и *Spodoptera* Sf9; клетки млекопитающих, такие как CHO, COS, HeLa, C127, 3T3, ВНК, 293 или клетки меланомы Bowes; и клетки растений. Также неклеточные системы трансляции могут применять для продуцирования указанных белков, с применением РНК, полученной из ДНК конструктов по данному изобретению.

Для экспрессии желаемой последовательности аминокислот на практике, путем введения вектора, в соответствии с данным изобретением, в клетку-хозяина, вектор может содержать, помимо последовательности нуклеиновой кислоты, в соответствии с данным изобретением, другие последовательности для контроля экспрессии

(например, промоторные последовательности, терминаторные последовательности та энхансерные последовательности) и гена маркеров для селекции микроорганизмов, клеток насекомого, животных клеток в культуре и тому подобное (например, гены резистентности к неомицину и гены резистентности к канамицину). Дополнительно, вектор может содержать последовательность нуклеиновой кислоты, в соответствии с данным изобретением, в повторенной форме (например, в тандеме). Вектор может быть сконструирован на базе методик и способов, которые традиционно применяют в сфере генетического конструирования.

Клетки-хозяева могут культивироваться в подходящей среде, и белок, в соответствии с данным изобретением, может быть получен из продукта культивирования. Белок, в соответствии с данным изобретением, может быть выделен из питательной среды и очищен обычным способом.

Проблема, которая находится в основе данного изобретения, в дальнейшем решается способом продуцирования полипептида, как определено выше, который характеризуется следующими этапами:

- a) введение вектора, кодирующего полипептид, в клетку-хозяина;
- b) выращивание клетки-хозяина в условиях, которые обеспечивают экспрессию указанного полипептида;
- c) гомогенизация указанной клетки-хозяина; и
- d) обработка гомогената клетки-хозяина последующими стадиями очистки.

Изобретение дополнительно относится к способу продуцирования полипептида, как определено выше, который характеризуется следующими этапами:

- a) введение нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, в вектор;
- b) введение указанного вектора в клетку-хозяина;
- c) выращивание указанной клетки-хозяина в условиях, которые обеспечивают экспрессию полипептида;
- d) гомогенизация указанной клетки-хозяина;
- e) обогащение полипептида в липидной фазе с помощью разделения фаз; и

f) последующая очистка на гель-фильтрационной колонке.

Изобретение дополнительно относится к способу продуцирования полипептида, как определено выше, который характеризуется следующими этапами:

- a) введение нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, в вектор;
- b) введение указанного вектора в клетку-хозяина;
- c) выращивание указанной клетки-хозяина в условиях, которые обеспечивают экспрессию полипептида;
- d) гомогенизация указанной клетки-хозяина;
- e) обогащение полипептида в липидной фазе с помощью разделения фаз;
- g) очистка на гель-фильтрационной колонке; и
- h) необязательно, последующая обработка на колонке с обменом буфера.

Проблема, которая находится в основе данного изобретения, в дополнительном аспекте изобретения решается с помощью антитела или по меньшей мере его эффективной части, которые специфически связываются по меньшей мере с выбранной частью полипептида, как определено выше.

В предпочтительном варианте реализации изобретения антитело является моноклональным антителом.

В другом предпочтительном варианте реализации изобретения указанная эффективная часть содержит фрагмент Fab, фрагмент F(ab), фрагмент F(ab)N, фрагмент F(ab)₂ или фрагмент F_v.

Еще в другом варианте реализации изобретения антитело является химерным антителом.

Еще в одном варианте реализации антитело является гуманизированным антителом.

В предпочтительном аспекте изобретения антитела по данному изобретению специфично связываются с полипептидами мутантного фрагмента OspA по данному изобретению, но не связываются с соответствующими полипептидами фрагмента OspA дикого типа. В более предпочтительном аспекте изобретения антитело связывается специфически с дисульфидной связью мутантного фрагмента OspA по данному изобретению.

Термин «специфичность» означает количество разных типов антигенов или антигенных детерминантов, с которыми может связаться конкретная антигенсвязывающая молекула или антигенсвязывающий белок (такой как нанотело или полипептид по данному изобретению). Специфичность антигенсвязывающего белка может быть определена на основании аффинности и/или авидности. Аффинность, представленная константой равновесия для диссоциации антигена с антигенсвязывающим белком (K_D), - это мера прочности связывания между антигенным детерминантом и сайтом связывания с антигеном на антигенсвязывающем белке: меньшее значение K_D означает большую прочность связывания между антигенной детерминантой и молекулой связывания с антигеном (альтернативно, аффинность также может быть выражена как константа аффинности (K_A), что равняется $1/K_D$).

Как будет понятно квалифицированному специалисту (например, на основании последующего раскрытия в данном документе), аффинность может быть определена в известной степени известным, по сути, способом, в зависимости от специфического целевого антигена. Авидность - это мера прочности связывания между антигенсвязывающей молекулой (такой как антитело или его эффективная часть по данному изобретению) и соответствующим антигеном. Авидность связана как с аффинностью между антигенным детерминантом и его антигенсвязывающим сайтом на антигенсвязывающей молекуле, так и с количеством соответствующих сайтов связывания на антигенсвязывающей молекуле. Обычно антигенсвязывающие белки (такие как антитело или его эффективная часть по данному изобретению) будут связываться со своим антигеном с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или меньше, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или меньше, и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л (то есть с константой ассоциации (K_A) от 10^5 к 10^{12} моль/л или больше, и предпочтительно от 10^7 к 10^{12} моль/л или больше, и более предпочтительно от 10^8 к 10^{12} моль/л). Любое значение K_D , которое превышает 10^4 моль/л (или любое значение K_A менее 10^4 M^{-1}) моль/л в целом рассматривается как указывающее на неспецифическое связывание. Предпочтительно, одновалентная последовательность иммуноглобулина по изобретению

будет связываться с желаемым антигеном с аффинностью менее чем 500 нМ, предпочтительно менее чем 200 нМ, более предпочтительно менее чем 10 нМ, например, менее чем 500 пМ. Специфическое связывание антигенсвязывающего белка с антигеном или антигенным детерминантом может быть определено любым подходящим способом, известной по сути, в частности, например, анализом Скетчарда и/или анализами конкурентного связывания, такими как радиоиммуноанализы (РИА), ферментные иммуноанализы (ФИА) и сэндвич-анализы конкуренции, и их разнообразные варианты, по сути, известные в данной области, а также другими способами, упомянутыми в данном документе.

Константа диссоциации может быть фактической или очевидной константой диссоциации, как будет понятно квалифицированному специалисту. Способы определения константы диссоциации будут известны квалифицированному специалисту и включают, например, методы, указанные в данном документе. В этом отношении также будет понятно, что может быть невозможным измерять константы диссоциации более чем 10^{-4} моль/л или 10^{-3} моль/л (например, 10^{-2} моль/л). Необязательно, что также будет понятно квалифицированному специалисту, константа диссоциации (фактическая или очевидная) может быть вычислена на основании константы ассоциации (K_A) (фактической или очевидной), с помощью соотношения $[K_D=1/K_A]$.

Аффинность означает активность или стабильность молекулярного взаимодействия. Аффинность обычно приводится как K_D или константа диссоциации, что измеряется в единицах моль/л (или М). Аффинность также может быть выражена, как константа ассоциации, K_A , что равняется $1/K_D$ и измеряется в единицах $(\text{моль/л})^{-1}$ (или M^{-1}). В данном документе стабильность взаимодействия между двумя молекулами (например, последовательностью аминокислот, нанотелом или полипептидом по данному изобретению и его предполагаемой мишенью) преимущественно будет выражена в показателях значения K_D их взаимодействия; при этом квалифицированному специалисту понятно, что с учетом соотношения $K_A=1/K_D$ конкретизация активности молекулярного взаимодействия при значении K_D может также

применяться для вычисления соответствующего значения K_A . Значение K_D характеризует активность молекулярного взаимодействия также с термодинамической точки зрения, поскольку она связана со свободной энергией (DG) связывания хорошо известным соотношением $DG = RT \cdot \ln(K_D)$ (равноценно $DG = -RT \cdot \ln(K_A)$), где R равняется константе газа, T равняется абсолютной температуре и $\ln$ обозначает натуральный логарифм.

Значения K_D для биологических взаимодействий, которые считаются значимыми (например, специфическими), обычно находятся в диапазоне от 10^{-10} М (0,1 нМ) до 10^{-5} М (10 000 нМ). Более сильное взаимодействие означает низшее значение K_D .

В предпочтительном варианте реализации изобретения K_D антитела по изобретению находится между 10^{-12} М и 10^{-5} М, предпочтительно менее чем 10^{-6} , предпочтительно менее чем 10^{-7} , предпочтительно менее чем 10^{-8} М, предпочтительно менее чем 10^{-9} М, более предпочтительно менее чем 10^{-10} М, еще более предпочтительно менее чем 10^{-11} М, наиболее предпочтительно менее чем 10^{-12} М.

K_D также может быть выражена как соотношение константы скорости диссоциации комплекса, обозначенной как k_{off} , к скорости ассоциации, обозначенной k_{on} (таким образом, что $K_D = k_{off}/k_{on}$ и $K_A = k_{on}/k_{off}$). Скорость k_{off} выражается в единицах s^{-1} (где s является обозначением секунды в единицах СИ). Константа ассоциации k_{on} выражается в единицах $M^{-1} s^{-1}$. Скорость ассоциации может варьировать от $10^2 M^{-1} s^{-1}$ до около $10^7 M^{-1} s^{-1}$, приближаясь к константе ограниченной диффузией скорости ассоциации для бимолекулярных взаимодействий. Скорость связана с периодом полувыведения для данного молекулярного взаимодействия соотношением $t_{1/2} = \ln(2)/k_{off}$. Скорость может варьировать от $10^{-6} s^{-1}$ (вблизи необратимого комплекса с $t_{1/2}$ нескольких дней) до $1 s^{-1}$ ($t_{1/2} = 0,69 s$).

Аффинность молекулярного взаимодействия между двумя молекулами может быть измерена с помощью разнообразных техник, по сути, известных, таких как хорошо известная техника резонанса поверхностного плазмона с биодатчиком (РПП) (см. например, Ober et al., Intern. Immunology, 13, 1551-1559, 2001), в которой одна

молекула иммобилизирована на чипе биодатчика, а другая молекула проходит над иммобилизированной молекулой в условиях потока, что дает измерение k_{on} , k_{off} и, таким образом, значение K_D (или K_A). Она может быть осуществлена, например, с применением известных приборов BIAcore.

Квалифицированному специалисту также будет понятно, что измеренное значение K_D может отвечать очевидной K_D , если способ измерения в известной степени влияет на внутреннюю аффинность связывания целевых молекул, например, в результате действия искусственных объектов, связанных с покрытием на биодатчике одной молекулы. Также, очевидная K_D может быть измерена, если одна молекула содержит более чем один сайт распознавания для другой молекулы. В такой ситуации измеренная аффинность может быть искажена авидностью взаимодействия с двумя молекулами.

Другой подход, который может быть применен для оценки аффинности, представляет собой методику 2-стадийного ТИФА (твердо-фазовый иммуноферментный анализ) Friguet et al. (J. Immunol. Methods, 77, 305-19, 1985). Данный способ обеспечивает измерение в состоянии равновесия связывания в растворе и позволяет избежать возможных препятствий, которые относятся к адсорбции одной из молекул на основе, такой как пластичная масса.

Однако точное измерение K_D может быть достаточно трудоемким; таким образом, часто определяется значение K_D для оценки активности связывания двух молекул. Следует отметить, что до тех пор, пока все измерения осуществляются последовательно (например, удерживанием условий анализа неизменными), очевидные значения K_D могут применяться как приближение к настоящей K_D и, таким образом, в данном документе K_D и очевидную K_D следует рассматривать как в равной степени важные или уместные.

В заключение, следует отметить, что во многих ситуациях опытный ученый может оценить пригодность для определения аффинности связывания относительно некоторой справочной молекулы. Например, для оценки активности связывания между молекулами А и В, может быть использована справочная молекула С, которая, как доказано, связывается с В и которая приемлемым

образом мечена флюорофорной или хромофорной группой или другим химическим фрагментом, таким как биотин, для легкости выявления в ходе ТИФА или поточной цитометрии или другого формата (флюорофор для выявления флуоресценции, хромофор для выявления абсорбции света, биотин для опосредствованного стрептавидином выявления в ходе ТИФА). Обычно поддерживают фиксированную концентрацию справочной молекулы C , и концентрация A варьирует для данной концентрации или количества B . В результате, значения ингибиторной концентрации $(IC)_{50}$ получают в соответствии с концентрацией A , при которой сигнал измеряют для C при отсутствии A , разделенной пополам. При условии, что известна K_{Dref} , то есть K_D справочной молекулы, а также общая концентрация справочной молекулы C_{ref} , очевидная K_D для взаимодействия A - B может быть получена из следующей формулы: $K_D = IC_{50} / (1 + C_{ref} / K_{Dref})$. Следует отметить, что если $C_{ref} \ll K_{Dref}$, то $K_D \approx IC_{50}$. При условии, что измерение IC_{50} осуществляется систематическим способом (например, при поддержке фиксированной C_{ref}) для связывающих средств, которые сравниваются, активность или стабильность молекулярного взаимодействия может быть оценена при измерении IC_{50} , и такое измерение рассматривается в данном документе как эквивалент K_D или очевидной K_D .

Другой аспект данного изобретения относится к линии клеток гибридомы, которая продуцирует антитело, как определено выше.

Проблема, которая находится в основе данного изобретения, в дальнейшем решается способом продуцирования антитела, как определено выше, который характеризуется следующими этапами:

а) инициация иммунной реакции у животного, которое не является человеком, путем введения полипептида, как определено выше, указанному животному;

б) отбор биологической жидкости происхождения, содержащей антитело, из организма указанного животного; и

с) получение антитела путем последующих стадий очистки указанной биологической жидкости происхождения, содержащей антитело.

Изобретение дополнительно относится к способу продуцирования антитела, как определено выше, который характеризуется

следующими этапами:

- а) инициация иммунной реакции у животного, которое не является человеком, путем введения полипептида, как определено выше, указанному животному;
- б) изъятие селезенки или клеток селезенки у указанного животного;
- с) продуцирование клеток гибридомы из указанной селезенки или клеток селезенки;
- д) отбор и клонирование клеток гибридомы, специфических для указанного полипептида;
- е) продуцирование антитела путем культивирования указанных клонированных клеток гибридомы; и
- ф) необязательное проведение последующих этапов очистки.

Другой аспект данного изобретения связан с фармацевтической композицией, содержащей антитело, как определено выше.

Еще один аспект относится к антителам, как определено выше, или фармацевтической композиции, содержащей антитело, как определено выше, для лечения или профилактики инфекции видами *Borrelia*, более предпочтительно патогенными видами *Borrelia*, как раскрыто в данном документе, более предпочтительно включая *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. bavariensis* и *B. garinii*.

Проблема, которая находится в основе данного изобретения, решается в другом аспекте применением антитела, как определено выше, для получения фармацевтической композиции для лечения или профилактики инфекций видами *Borrelia*, более предпочтительно патогенными видами *Borrelia*, как раскрыто в данном документе, более предпочтительно включая *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. bavariensis* и *B. garinii*.

В третьем аспекте данное изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей полипептид в соответствии с первым аспектом и/или нуклеиновую кислоту в соответствии со вторым аспектом. Фармацевтическая композиция необязательно может содержать любой фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество, например, буферные вещества, стабилизаторы или дополнительные активные ингредиенты, в частности ингредиенты, известные в связи с фармацевтическими

композициями и/или продуцированием вакцины. Предпочтительно, фармацевтическая композиция применяется как лекарственное средство, в частности, как вакцина или для профилактики или лечения инфекции, вызванной видами *Borrelia*, более предпочтительно патогенными видами *Borrelia*, как раскрыто в данном документе, более предпочтительно включая *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. bavariensis* и *B. garinii*, и/или другие патогены, антигены против которых входят в вакцину.

В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция дополнительно содержит адъювант. Выбор подходящего адъюванта для смешивания с бактериальными токсинами или конъюгатами с применением способов, согласно данному изобретению, находится в пределах компетенции специалиста в данной области техники. Подходящие адъюванты включают соль алюминия, такую как гидроксид алюминия или фосфат алюминия, но могут включать также другие соли металлов, такие как соли кальция, магния, железа или цинка, или могут представлять собой нерастворимую суспензию ацилированного тирозина или ацилированные сахара, катионно или анионно дериватизированные сахараиды, или полифосфазены. В предпочтительном варианте реализации изобретения адъювантом в фармацевтической композиции является гидроксид алюминия.

В другом варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция дополнительно содержит иммуностимулирующее вещество, предпочтительно выбранную из группы, состоящей из поликатионных полимеров, в частности, поликатионных пептидов, иммуностимулирующих олигодезоксинуклеотидов (ОДН), в частности, олиго(dIdC)₁₃ (SEQ ID NO: 32), пептидов, содержащих по меньшей мере два мотива LysLeuLys, в частности, пептида KLKLLLLLKLK (SEQ ID NO: 33), нейроактивных соединений, в частности, гормона роста человека, гидроксида алюминия, фосфата алюминия, полных или неполных адъювантов Фрейнда, или их комбинаций. Предпочтительно, иммуностимулирующее вещество является комбинацией любого поликатионного полимера и иммуностимулирующих дезоксинуклеотидов или пептида, содержащего по меньшей мере два мотива LysLeuLys и иммуностимулирующие дезоксинуклеотиды, предпочтительно

комбинацию KLKLLLLLKLK (SEQ ID NO: 33) и олиго(dIdC)₁₃ (SEQ ID NO: 32). Более предпочтительно, указанный поликатионный пептид представляет собой полиаргинин.

В другом варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит натрия фосфат, натрия хлорид, L-метионин, сахарозу и Твин-20 при pH 6,7±0,2. Предпочтительно, фармацевтическая композиция также содержит гидроксид алюминия, предпочтительно в концентрации 0,15%.

В одном варианте реализации изобретения препарат содержит от 5 мМ до 50 мМ натрия фосфата, от 100 до 200 мМ натрия хлорида, от 5 мМ до 25 мМ L-метионина, от 2,5% до 10% сахарозы, от 0,01% до 0,1% Твина 20 и от 0,1% до 0,2% (масс/об) гидроксида алюминия. Более предпочтительно, препарат содержит 10 мМ натрия фосфата, 150 мМ натрия хлорида, 10 мМ L-метионина, 5% сахарозы, 0,05% Твина 20 и 0,15% (мас/об) гидроксида алюминия при pH 6,7±0,2. Еще более предпочтительно, препарат содержит по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три гетеродимера мутанта OspA, согласно данному изобретению.

В одном варианте реализации фармацевтическая композиция содержит 3 гетеродимера, предпочтительно Lip-S1D1-S2D1 (SEQ ID NO: 186), Lip-S4D1-S3D1 (SEQ ID NO: 194) и Lip-S5D1-S6D1 (SEQ ID NO: 190). Предпочтительно, три гетеродимера смешивают в молярном соотношении 1:2:1, 1:3:1, 1:1:2, 1:1:3, 1:2:2, 1:2:3, 1:3:2, 1:3:3, 2:1:1, 2:1:2, 2:1:3, 2:2:3, 2:2:1, 2:3:1, 2:3:2, 2:3:3, 3:1:1, 3:1:2, 3:1:3, 3:2:1, 3:2:2, 3:2:3, 3:3:1, 3:3:2, наиболее предпочтительно 1:1:1.

В другом варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит два гетеродимера, предпочтительно Lip-S1D1-S2D1 (SEQ ID NO: 186) и Lip-S5D1-S6D1 (SEQ ID NO: 190), Lip-S1D1-S2D1 (SEQ ID NO: 186) и Lip-S4D1-S3D1 (SEQ ID NO: 194) или Lip-S4D1-S3D1 (SEQ ID NO: 194) и Lip-S5D1-S6D1 (SEQ ID NO: 190) в молярном соотношении 1:2, 1:3, 2:1, 3:1, 2:3, 3:2, предпочтительно 1:1.

В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция или вакцина, согласно данному изобретению,

дополнительно содержит по меньшей мере один дополнительный антиген (в данном описании в целом обозначенный как «комбинированная вакцина»). В предпочтительном варианте реализации изобретения по меньшей мере один дополнительный антиген получен из видов *Borrelia*, которые вызывают боррелиоз Лайма. В разных аспектах изобретения по меньшей мере один дополнительный антиген получен из другого патогена, предпочтительно патогена, который переносят клещи. В другом аспекте изобретения патоген вызывает пятнистую лихорадку скалистых гор, гранулоцитарный эрлихиоз человека (ГАЭЛ), лихорадку сеннецу, моноцитарный эрлихиоз человека (МЕЛ), анаплазмоз, средиземноморскую лихорадку, риккетсиоз *Rickettsia parkeri*, болезнь Мастерса (STARI), пятнистую лихорадку, вызванную *Rickettsia helvetica*, риккетсиоз 364D, африканский сыпной тиф, эпидемический поворотный тиф, туляремию, лихорадку колорадского клеща, клещевого энцефалита (ТВЕ, также известный как FSME), конго-крымскую геморрагическую лихорадку, лихорадку Q, омскую геморрагическую лихорадку, киасанурскую лихорадку, энцефалит Повассан, болезнь вируса Хертланда или бабезиоз. В другом аспекте изобретения заболевание представляет собой японский энцефалит.

В другом варианте реализации изобретения по меньшей мере один дополнительный антиген получен из переносимого вектором, предпочтительно переносимого клещом, патогена, выбранного из группы, включающей *Borrelia hermsii*, *Borrelia parkeri*, *Borrelia duttoni*, *Borrelia miyamotoi*, *Borrelia turicatae*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia australis*, *Rickettsia conori*, *Rickettsia helvetica*, *Francisella tularensis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia sennetsu*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Coxiella burnetii* и *Borrelia lonestari*, переносимого клещом вируса энцефалита (вирус ТБЕV или FSME), вируса лихорадки колорадского клеща (ВГКК), вируса конго-крымской геморрагической лихорадки (ВККГЛ), вируса омской геморрагической лихорадки (ВОГЛ), вируса японского энцефалита (ВЯЕ) и видов *Babesia*.

В другом аспекте изобретения комбинированная вакцина, согласно данному изобретению, включает любую композицию вакцины,

обсуждаемую в данном документе, в комбинации по меньшей мере со второй композицией вакцины. В некоторых аспектах изобретения вторая композиция вакцины защищает против переносимого вектором заболевания, предпочтительно переносимого клещом заболевания. В разных аспектах изобретения вторая композиция вакцины имеет сезонное расписание иммунизации, совместимое с иммунизацией против инфекции *Borrelia* или боррелиоза Лайма. В других аспектах изобретения комбинированные вакцины пригодны для предотвращения множественных заболеваний и применение в географических регионах, где распространены такие заболевания.

В одном аспекте изобретения вторая композиция вакцины является вакциной, выбранной из группы, состоящей из вакцины против клещевого энцефалита, вакцины против японского энцефалита и вакцины против пятнистой лихорадки скалистых гор. В предпочтительном аспекте изобретения композиция вакцины представляет собой FSME-IMMUN® (Baxter), Encepur® (Novartis Vaccines), EnceVir® (Microgen NPO) или TBE Moscow Vaccine® (Институт полиомиелита и вирусного энцефалита им. Чумакова Академии медицинских наук России). В другом предпочтительном аспекте изобретения композиция вакцины представляет собой IXIARO®/JESPECT® (Valneva SE), JEEV® (Biological E, Ltd.) или IMOJEV® (Sanofi Pasteur).

Дополнительно предлагается вакцина, содержащая фармацевтическую композицию, причем указанная вакцина может дополнительно содержать фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. В предпочтительном варианте реализации изобретения вспомогательное вещество является L-метионином.

Изобретение также включает иммуногенные композиции. В некоторых аспектах изобретения иммуногенная композиция, согласно данному изобретению, содержит любую из композиций, обсуждаемых в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В разных аспектах изобретения иммуногенная композиция обладает свойством индуцировать продуцирование антитела, которое специфически связывается с внешним поверхностным белком А (OspA). В некоторых аспектах изобретения иммуногенная композиция обладает свойством индуцировать продуцирование антитела, которое

специфически связывается с *Borrelia*. В конкретных аспектах изобретения иммуногенная композиция обладает свойством индуцировать продуцирование антитела, которое нейтрализует *Borrelia*. В некоторых аспектах изобретения антитело продуцируется животным. В других аспектах изобретения животное является млекопитающим. В последующих аспектах млекопитающее является человеком.

Препараты вакцины, содержащие фармацевтические композиции согласно данному изобретению, могут применяться для защиты млекопитающего, восприимчивого к инфекции *Borrelia*, или лечения млекопитающего с инфекцией *Borrelia* путем введения указанной вакцины системно или через слизистую оболочку. Такое введение может включать инъекцию внутримышечным, внутрибрюшинным, внутрикожным или подкожным способом; или введение через слизистую оболочку в ротовую полость/пищеварительный тракт, дыхательные пути или мочеполовой тракт. Хотя вакцина, согласно данному изобретению, может вводиться в единственной дозе, ее компоненты также могут быть введены совместно в одно и то же время или в разное время.

В одном аспекте изобретения предложен набор вакцины, включающий флакон, который содержит фармацевтическую композицию, согласно данному изобретению, необязательно в лиофилизированной форме, и дополнительно включающий флакон, который содержит адъювант, как описано в данном документе. Предполагается, что в данном аспекте изобретения адъювант будет применяться для разведения лиофилизированной иммуногенной композиции. В другом аспекте фармацевтическая композиция, согласно данному изобретению, может быть предварительно смешана во флаконе, предпочтительно в шприце.

Другой аспект изобретения представляет собой способ профилактики или лечения инфекции *Borrelia*, включающий введение хозяину дозы иммунопротекторной фармацевтической композиции или вакцины, или набора, согласно данному изобретению. В одном варианте реализации изобретения предложен способ профилактики или лечения первичного и/или возвратных эпизодов инфекции *Borrelia*, включающий введение хозяину дозы иммунопротекторной

фармацевтической композиции или вакцины, или набора, согласно данному изобретению.

Другой аспект изобретения представляет собой фармацевтическую композицию, согласно данному изобретению, для применения при лечении или профилактики заболевания боррелиозом. В одном варианте реализации изобретения предложена фармацевтическая композиция для применения при лечении или профилактике инфекции *Borrelia*.

Другой аспект изобретения представляет собой применение фармацевтической композиции или вакцины, или набора, согласно данному изобретению, для производства лекарственных средств для лечения или профилактики инфекции *Borrelia*. В одном варианте изобретения предложена фармацевтическая композиция, согласно данному изобретению, для применения в производстве лекарственных средств для лечения или профилактики инфекции *Borrelia*.

Изобретение также включает способы индукции иммунологической реакции у субъекта. В разных аспектах изобретения такие способы включают стадию введения любой из иммуногенных композиций или композиций вакцины, обсуждаемых в данном документе, субъекту, в количестве, эффективном для индукции иммунологической реакции. В некоторых аспектах изобретения иммунологическая реакция включает продуцирование анти-OspA антитела.

Изобретение включает способы профилактики или лечения инфекции *Borrelia* или боррелиоза Лайма у субъекта. В разных аспектах изобретения такие способы включают стадию введения любой из композиций вакцины, обсуждаемых в данном документе, или любой из комбинированных вакцин, обсуждаемых в данном документе, субъекту, в количестве, эффективном для профилактики или лечения инфекции *Borrelia* или боррелиоза Лайма.

Изобретение включает применение полипептидов, нуклеиновых кислот, антител, фармацевтических композиций или вакцин, согласно изобретению, для получения лекарственных средств. Другие родственные аспекты изобретения также предложены в данном изобретении.

Авторами изобретения предусмотрено, что термины «включающий (содержащий)», «включать (содержать)» и «включает (содержит)» в

данном документе необязательно могут быть заменены терминами «состоящий из», «состоять из» и «состоит из», соответственно, в каждом случае. Термин «содержит» означает «включает». Таким образом, если контекст не предусматривает иного, слово «включает (содержит)» и его вариации, такие как «включают (содержат)» и «включающий (содержащий)», следует понимать как означающие включения заявленного составляющего или композиции (например, нуклеиновая кислота, полипептид, антитело), или стадии, или группы соединений или стадий, но не исключающие любые другие соединения, композиции, стадии или их группы. Слово «например» применяется в данном документе, чтобы указать на неограничивающий пример.

Варианты реализации изобретения, которые в данном документе относятся к «композициям вакцины» согласно изобретению, также применимы к вариантам, которые относятся к «фармацевтическим композициям» согласно изобретению, и наоборот.

Если не объяснено иначе, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, которое обычно понимает средний специалист в данной области техники, к которой принадлежит данный документ. Определение распространенных терминов в молекулярной биологии может быть найдено в Benjamin Lewin, *Genes V*, опубликованной Oxford University Press, 1994 (ISBN 0-19-854287-9); Kendrew et al. (eds.), *The Encyclopedia of Molecular Biology*, опубликованной Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9); и Robert A. Meyers (ed.), *Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference*, опубликованной VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8).

Обозначения единственного числа подразумевают и множественное число, если только контекст четко не указывает на другое. Также слово «или» предназначено включать «и», если только контекст четко не указывает на другое. Термин «множество» означает два или больше. Также следует понимать, что все размеры основ или размеры аминокислот и все значения молекулярного веса или молекулярной массы, приведенные для нуклеиновых кислот или полипептидов, являются приблизительными и приведены с целью

описания. Дополнительно, цифровые ограничения, приведенные с учетом концентраций или уровней вещества, такой как антиген, могут быть приблизительными.

Предпочтительный носителем или вспомогательное вещество для полипептидов, в соответствии с данным изобретением в его разных вариантах реализации, или молекулы нуклеиновой кислоты, в соответствии с данным изобретением, являются иммуностимулирующим соединением, таким как адъювант, для дополнительной стимуляции иммунной реакции на полипептид, в соответствии с данным изобретением, или кодирующей его молекулой нуклеиновой кислоты.

Адъюванты, которые могут быть применены в композициях, согласно данному изобретению, включают, без ограничений:

А. Композиции, содержащие минералы

Композиции, которые содержат минералы и являются пригодными для применения в роли адъювантов согласно изобретению, включают минеральные соли, такие как соли алюминия и соли кальция. Изобретение включает минеральные соли, такие как гидроксиды (например, оксигидроксиды), фосфаты (например, гидроксифосфаты, ортофосфаты), сульфаты и тому подобное, или смеси разнообразных минеральных соединений с соединениями, которые принимают любую приемлемую форму (например, гелевую, кристаллическую, аморфную и тому подобное), причем предпочтительной является адсорбция. Композиции, содержащие минералы, также могут принимать форму частицы соли металла.

Приемлемым адъювантом на основе алюминия фосфата является аморфный алюминия тригидроксифосфат с молярным соотношением PO_4/Al от 0,84 до 0,92. Другим приемлемым адъювантом на основе алюминия является ASO_4 , комбинация алюминия гидроксида+монофосфориллипида (МФЛ).

В. Масляные эмульсии

Композиции в форме масляных эмульсий, приемлемые для применения в качестве адъювантов в данном изобретении, включают эмульсии сквален-в-воде, например, MF59 (5% сквалена, 0,5% Твина 80 и 0,5% Спана 85 в форме субмикронных частиц, изготовленных с помощью микрофлюидизатора), AS03 (сквален, токоферол и Твин 80) и AF03 (сквален, Montane® 80 и Eumulgon® B1 PH). Полный адъювант

Фрейнда (ПАФ) и неполный адъювант Фрейнда (НАФ) также могут быть применены.

Приемлемые эмульсии масло-в-воде типично содержат по меньшей мере одно масло и по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество, причем масло(а) и поверхностно-активное(ые) вещество(а) поддаются биологическому распаду (метаболизируются) и являются биосовместимыми. Диаметр капелек масла в эмульсии в целом составляет менее чем 1 мкм, причем такие малые размеры достигаются с помощью микрофлюидизатора, чтобы обеспечить стабильную эмульсию. Капельки размером менее 220 нм являются предпочтительными, поскольку их можно обрабатывать стерилизующей фильтрацией.

Эмульсия может содержать масла, например, животного (такого как рыба) или растительного происхождения. Источники масел включают орехи, зерна и семена. Арахисовое масло, соевое масло, кокосовое масло и оливковое масло чаще всего являются доступными и являются примером ореховых масел. Можно применять масло жожоба, например, полученное из боба жожоба. Зерновые масла включают сафлоровое масло, хлопковое масло, подсолнечное масло, кунжутное масло и тому подобное. В группе зерновых кукурузное масло является легко доступным, но масло других хлебных зерен, таких как пшеница, овес, рожь, рис, теф, тритикале и тому подобное, также может быть применено. Сложные эфиры глицерина или 1,2-пропандиола и жирных кислот, которые содержат 6–10 атомов углерода, хоть и не встречаются в природе в зерновых маслах, могут быть получены гидролизом, разделением и этерификацией приемлемых материалов, начиная с ореховых и зерновых масел. Жиры и масла из молока млекопитающих метаболизируются и могут, таким образом, быть применены в реализации данного изобретения. Процедуры разделения, очистки, омыления и другие средства, необходимые для получения чистых масел из животных источников, хорошо известны в данной области техники. Большинство видов рыбы содержат масла, которые метаболизируются и которые могут быть легко выделены. Например, масло печени трески, масла печени акулы и масло кита, такое как спермацет, являются примерами некоторых рыбных масел, которые

могут быть применены в данном изобретении. Целый ряд масел с разветвленной цепью синтезируют биохимическим способом в виде изопреновых фрагментов, которые содержат 5 атомов углерода, и в целом они обозначены как терпеноиды. Масло печени акулы содержит разветвленный, ненасыщенный терпеноид, известный как сквален, 2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14,18,22-тетракозагексаен, который является особенно предпочтительным в соответствии с данным изобретением. Сквалан, насыщенный аналог сквалена, также является предпочтительным маслом. Рыбные масла, в частности, сквален и сквалан, легко доступны из коммерческих источников или могут быть получены способами, известными в данной области техники. Другими предпочтительными маслами являются токоферолы (см. ниже). Могут быть применены смеси масел.

Поверхностно-активные вещества могут быть классифицированы по их ГЛБ (гидрофильно-липофильному балансу). Предпочтительные поверхностно-активные вещества, согласно данному изобретению, имеют ГЛБ по меньшей мере 10, предпочтительно по меньшей мере 15 и более предпочтительно по меньшей мере 16. Изобретение может применяться с использованием поверхностно-активных веществ, включая, без ограничений: поверхностно-активные эфиры полиоксиэтилен сорбитана (обычно обозначаются как Твины), в частности полисорбат 20 и полисорбат 80; сополимеры этиленоксида (ЕО), пропиленоксид (ПО) и/или бутиленоксид (БО), который продается под торговым названием DOWF AX™, например, линейные блок-сополимеры ЕО/ПО; октоксинолы, которые могут варьироваться по количеству повторений этокси(окси-1,2-этандинил) групп, причем особенный интерес представляет октоксинол-9 (Тритон X-100, или трет-октилфеноксиполиэтоксизтанол); (октилфенокси) полиэтоксизтанол (IGEPAL CA-630/NP-40); фосфолипиды, такие как фосфатидилхолин (лецитин); нонилфенол этоксилаты, например, серии Tergitol™ NP; жирные эфиры полиоксиэтилена, полученные из лаурилового, цетилового, стеарилового и олеилового спиртов (известные как поверхностно-активные вещества Brij), например, триэтиленгликольмонолауриловый эфир (Brij 30); и эфиры сорбитана (обычно известные как СПАНЫ), такие как сорбитан триолеат (Спан 85) и сорбитан монолаурат. Неионные поверхностно-активные

вещества являются предпочтительными. Предпочтительными поверхностно-активными веществами для введения в эмульсии являются Твин 80 (полиоксиэтилен сорбитан моноолеат), Спан 85 (сорбитан триолеат), лецитин и Тритон X-100.

Могут применяться смеси поверхностно-активных веществ, например, смеси Твина 80/Спана 85. Комбинация полиоксиэтиленового эфира сорбитана, такая как полиоксиэтилен сорбитан моноолеата (Твин 80), и октоксинол, такой как трет-октилфеноксиполиэтоксигетанол (Тритон X-100), также являются приемлемыми. Другая приемлемая комбинация содержит лаурет 9 плюс полиоксиэтиленовый эфир сорбитана и/или октоксинол.

Предпочтительные количества поверхностно-активных веществ (% масс) следующие: полиоксиэтиленовые эфиры сорбитана (такие как Твин 80) 0,01–1%, в частности, около 0,1%; октил- или нонилфеноксиполиоксиэтанола (такие как Тритон X-100 или другие детергенты в сериях Тритон) 0,001–0,1%, в частности, от 0,005 до 0,02%; полиоксиэтиленовые эфиры (такие как лаурет 9) от 0,1 до 20%, предпочтительно 0,1–10% и, в частности, 0,1–1% или около 0,5%.

Предпочтительно, диаметр в значительной степени всех (например, по меньшей мере 90% от количества) масляных капелек составляет менее чем 1 мкм, например, < 750 нм, < 500 нм, < 400 нм, < 300 нм, < 250 нм, < 220 нм, < 200 нм или меньше. Одна конкретная подходящая субмикронная эмульсия состоит из сквалена, Твина 80 и Спана 85. Состав эмульсии (по объему) может включать около 5% сквалена, около 0,5% полисорбата 80 и около 0,5% Спана 85. По массе указанные соотношения соответствуют 4,3% сквалена, 0,5% полисорбата 80 и 0,48% Спана 85. Эмульсия MF59 предпочтительно содержит цитрат-ионы, например, 10 мМ буфер натрия цитрата.

С. Препараты сапонинов

Препараты сапонинов также могут быть применены как адъюванты в данном изобретении. Сапонины представляют собой гетерогенную группу стероидных гликозидов и тритерпеновых гликозидов, находящихся в коре, листьях, стволах, корнях и даже цветах широкого спектра видов растений. Сапонин из коры дерева *Quillaia*

saponaria Molina широко изучен как адъювант. Сапонин также может быть коммерчески получен из *Smilax ornata* (аралия), *Gypsophilla paniculata* (вуаль невесты) и *Saponaria officinalis* (мыльный корень). Препараты сапониновых адъювантов включают очищенные препараты, такие как QS21, а также препараты липидов, такие как ИСКОМ. QS21 продается под названием Stimulon™.

Композиции сапонины очищают, применяя ВЕРХ и ЗФ-ВЕРХ. С применением этих методов идентифицированы конкретные очищенные фракции, в частности, QS7, QS 17, QS 18, QS21, QH-A, QH-B и QH-C. Предпочтительно, сапонин представляет собой QS21. Дополнительно, препараты сапонины могут содержать стероид, такой как холестерин.

Комбинации сапонины и холестерин могут быть применены для образования уникальных частиц под названием иммуностимулирующие комплексы (ИСКОМ). Обычно ИСКОМ дополнительно содержат фосфолипид, такой как фосфатидилэтаноламин или фосфатидилхолин. Любой известный сапонин может быть применен в ИСКОМ. Предпочтительно, ИСКОМ содержит один или более QS7, QS 17, QS 18, QS21, QH-A, QH-B и QH-C. Необязательно, ИСКОМ может быть лишен дополнительного детергента.

D. Виросомы и вирусоподобные частицы

Виросомы и вирусоподобные частицы (ВПЧ) также могут быть применены как адъюванты в данном изобретении. Указанные структуры в целом содержат один или более белков вируса, необязательно комбинированных или введенных в состав композиции с фосфолипидом. В целом они являются непатогенными, нереплицированными, и в целом не содержат ничего из естественного вирусного генома. Вирусные белки могут быть получены рекомбинантным способом или выделены из цельных вирусов. Указанные вирусные белки, подходящие для применения в виросомах или ВПЧ, включают белки, которые получены из вируса гриппа (например, гемагглютинин (ГА) или нейраминидаза (НА)), вируса гепатита В (например, ядерные или капсидные белки), вируса гепатита Е, вируса кори, вируса Синдбис, ротавируса, вируса ящера, ретровирусов, вируса Норфолк, вируса папилломы

человека, ВОЛ, РНК, Q β -фага (такого как белки оболочки), GA-фага, fr-фага, AP205 фага и Ту (такого как белок ретротранспозона *Tu pi*).

Е. Бактериальные или микробные производные

Адъюванты, подходящие для применения согласно изобретению, включают бактериальные или микробные производные, такие как нетоксичные производные энтеробактериального липополисахарида (ЛПС), производные липида А, иммуностимулирующие олигонуклеотиды и АДФ-рибозилированные токсины и их обезвреженные производные.

Нетоксичные производные ЛПС включают монофосфориллипид (МФЛ) и 3-О-дезацилированный МФЛ (ЗдМФЛ). ЗдМФЛ представляет собой смесь 3 дез-О-ацилированных монофосфориллипидов с 4, 5 или 6 ацилированными цепями. Такие «маленькие частицы» ЗдМФЛ являются достаточно маленькими, чтобы поддаваться стерилизующей фильтрации через мембрану с размером отверстий 0,22 мкм. Другие нетоксичные производные ЛПС включают миметики монофосфориллипида А, такие как аминокислотный глюкозаминид фосфатные производные, например, RC-529, синтетический фосфолипидный димер, E6020.

Липидные производные включают производные липида А с *Escherichia coli*, такие как OM-174. Иммуностимулирующие олигонуклеотиды, подходящие для применения в роли адъювантов в изобретении, включают последовательности нуклеотидов, содержащие мотив CpG (последовательность динуклеотида, содержащая неметилованный цитозин, соединенный фосфатной связью с гуанозином). Двухцепочечные РНК и олигонуклеотиды, содержащие палиндромные или поли(dG) последовательности, также продемонстрировали иммуностимулирующие свойства.

CpG может включать модификации/аналоги нуклеотидов, такие как фосфотиоатные модификации, и может быть двухцепочечным или одноцепочечным. Последовательность CpG может быть направлена на TLR9, например, мотив GTCGTT или TTCGTT. Последовательность CpG может быть специфической для индуцирования иммунной реакции Th1, например, CpG-A ODN, или она может быть более специфической для индуцирования реакции В-клеток, например, CpG-B ODN. Предпочтительно, CpG представляет собой CpG-A ODN.

Предпочтительно, олигонуклеотид CpG конструируется таким образом, что 5' конец доступен для распознавания рецептора. Необязательно, две последовательности олигонуклеотида CpG могут быть соединены на 3' концах с целью образования «иммуномеров». Особенно подходящий адъювант, основанный на иммуностимулирующих олигонуклеотидах, известен как IC31®. Таким образом, адъювант, применяемый согласно изобретению, может содержать смесь (i) олигонуклеотида (например, длиной 15-40 нуклеотидов), содержащую, в частности, по меньшей мере один (и, предпочтительно, множество) мотивов CpI (то есть цитозин, соединенный с инозином для образования динуклеотида), и (ii) поликатионный полимер, такой как олигопептид (например, размером 5-20 аминокислот), который содержит по меньшей мере одну (и, предпочтительно, множество) трипептидных последовательностей Lys-Arg-Lys. Олигонуклеотид может быть дезоксинуклеотидом, содержащим последовательность 26-mer 5'-(dIdC)₁₃-3' (SEQ ID NO: 32). Поликатионный полимер может быть пептидом, содержащим 11-mer последовательность аминокислот KLKLLLLLKLK (SEQ ID NO: 33).

Поликатионные соединения, которые получены из природных источников, включают HIV-REV или HIV-TAT (производные катионные пептиды, пептиды сложного локуса, хитозан или другие производные хитина) или другие пептиды, которые получены из указанных пептидов или белков биохимическим или рекомбинантным продуцированием. Другие предпочтительные поликатионные соединения представляют собой кателин или родственные или полученные из кателина вещества. Например, кателин мыши представляет собой пептид, содержащий последовательность аминокислот NH₂-RLAGLLRKGGEKIGEKLLKKIGQKIKNFFQKLVPQPE-COOH (SEQ ID NO: 31). Родственные или полученные из кателина вещества содержат полноразмерную или частичную последовательность кателина размером по меньшей мере 15-20 остатков аминокислот. Модификации могут включать замену или модификацию природных аминокислот аминокислотами, которые не входят в 20 стандартных аминокислот. Кроме того, дополнительные катионные остатки могут быть введены в такие молекулы кателина. Указанные молекулы кателина предпочтительно комбинированы с антигеном. Неожиданно

оказалось, что такие молекулы кателина также являются эффективными как адъювант для антигена без введения дополнительных адъювантов. Таким образом, существует возможность применять такие молекулы кателина как эффективные адъюванты в препаратах вакцин с дополнительными веществами активизации иммунных реакций или без них.

Бактериальные АДФ-рибозилирующие токсины и их обезвреженные производные могут быть применены в данном изобретении как адъюванты. Предпочтительно, белок получают из *E. coli* (термолабильный энтеротоксин *E. coli* «LT»), холерного вибриона (токсин холеры «СТ») или *Bordetella pertussis* (токсин коклюша «РТ»). Известно применение обезвреженных АДФ-рибозилирующих токсинов как адъювантов для слизистой оболочки и как парентеральных адъювантов. Токсин или анатоксин предпочтительно находится в форме голотоксина, содержащего субъединицы А и В. Предпочтительно, субъединица А содержит обезвреженную мутацию; предпочтительно, субъединица В является немодифицированной. Предпочтительно, адъювант является обезвреженным мутантом LT, таким как LT-K63, LT-R72, LT-G192 или dmLT. Пригодным мутантом СТ является СТ-E29H.

Г. Иммуномодуляторы человека

Иммуномодуляторы человека, пригодные для применения в роли адъювантов в данном изобретении, включают цитокины, такие как интерлейкины (например, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12 и тому подобные), интерфероны (например, интерферон-γ), макрофагальный колониестимулирующий фактор и опухолевый некротический фактор. Предпочтительным иммуномодулятором является IL-12.

Г. Биоадгезивные и мукоадгезивные вещества

Биоадгезивные и мукоадгезивные вещества также могут быть применены в данном изобретении как адъюванты. Подходящие биоадгезивные вещества включают микросферы этерифицированной гиалуроновой кислоты или мукоадгезивные вещества, такие как перекрестно-сшитые производные полиакриловой кислоты, поливинилового спирта, поливинилпирролидона, полисахаридов и карбоксиметилцеллюлозы. Хитозан и его производные также могут

быть применены в изобретении как адъюванты.

Н. Микрочастицы

Микрочастицы также могут быть применены в изобретении как адъюванты. Микрочастицы (то есть частицы диаметром от ~100 нм до ~150 мкм, более предпочтительно диаметром от ~200 нм до ~30 мкм и наиболее предпочтительно диаметром ~500 нм до ~10 мкм) образованные биораспадающимися и нетоксичными материалами (например, поли(α -гидроксикислотой), полигидроксимасляной кислотой, полиортоэфиром, полиангидридом, поликапролактоном, поли(лактид-ко-гликозидом) и тому подобное), причем пол(лактид-ко-гликозид) является предпочтительным, необязательно обрабатывают для получения поверхности с отрицательным зарядом (например, с помощью натрия лаурилсульфата (НЛС)) или поверхности с положительным зарядом (например, с помощью катионного детергента, такого как цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ)).

І. Липосомы

Известны примеры липосомальных препаратов, пригодных для применения в качестве адъювантов.

Ј. Препараты полиоксиэтиленового эфира и полиоксиэтиленового сложного эфира

Адъюванты, пригодные для применения в изобретении, включают полиоксиэтиленовые эфиры и полиоксиэтиленовые сложные эфиры. Такие препараты дополнительно содержат поверхностно-активные вещества на основе полиоксиэтиленового эфира сорбитана в комбинации с октоксинолом, а также поверхностно-активные вещества на основе полиоксиэтилен алкиловых эфиров или сложных эфиров в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным неионным поверхностно-активным веществом, таким как октоксинол. Предпочтительные полиоксиэтиленовые эфиры выбраны из следующей группы: полиоксиэтилен-9-лауриловый эфир (лаурет 9), полиоксиэтилен-9-стеариловый эфир, полиоксиэтилен-8-стеариловый эфир, полиоксиэтилен-4-лауриловый эфир, полиоксиэтилен-35-лауриловый эфир и полиоксиэтилен-23-лауриловый эфир.

К. Мурамиловые пептиды

Примеры мурамиловых пептидов, пригодных для применения в качестве адъювантов в данном изобретении, включают N-ацетил-мурамил-L-треонил-D-изоглутамин (thr-MDP), N-ацетил-нормурамил-L-аланил-D-азоглутамин (nor-MDP) и N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутаминил-L-аланин-2-(1'-2'-дипальмитоил-5n-глицеро-3-гидроксифосфорилокси)-этиламин (MTP-PE).

L. Имидазохинолоновые соединения.

Примеры имидазохинолоновых соединений, пригодных для применения в качестве адъювантов в изобретении, включают Imiquimod и его гомологи (например, «Resiquimod 3M»).

Изобретение может также включать комбинации аспектов одного или более адъювантов, идентифицированных выше.

Предпочтительно, иммуностимулирующее соединение в фармацевтическом препарате, согласно данному изобретению, выбрано из группы поликатионных веществ, в частности поликатионных пептидов, иммуностимулирующих молекул нуклеиновых кислот, предпочтительно иммуностимулирующих дезоксинуклеотидов, эмульсий масло-в-воде или вода-в-масле, MF59, солей алюминия, полного адъюванта Фрейнда, неполного адъюванта Фрейнда, нейроактивных соединений, в частности гормона роста человека или их комбинаций.

Применение адъюванта на основе гидроксида алюминия и/или фосфата алюминия является особенно предпочтительным, и антигены в целом адсорбируются на этих солях.

Также фармацевтическая композиция, в соответствии с данным изобретением, представляет собой фармацевтическую композицию, которая содержит по меньшей мере любое из следующих соединений или их комбинаций: молекулы нуклеиновой кислоты в соответствии с данным изобретением, полипептиды в соответствии с данным изобретением в разных их вариантах реализации, вектор в соответствии с данным изобретением, клетки в соответствии с данным изобретением и антитело в соответствии с данным изобретением. В связи с этим, любое из указанных соединений может быть применено в комбинации с нестерильным или стерильным носителем или носителями для применения с клетками, тканями или организмами, например, фармацевтический носитель, пригодный для

введения субъекту. Такие носители могут включать, без ограничений, раствор соли, буферизуемый раствор соли, декстрозу, воду, глицерин, этанол и их комбинации. Препарат должен соответствовать способу введения.

В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит стабилизатор. Термин «стабилизатор» означает вещество или вспомогательное вещество вакцины, которое защищает иммуногенную композицию вакцины от неблагоприятных условий, таких как возникающие в ходе нагревания или замерзания, и/или продлевает стабильность или срок хранения иммуногенной композиции в стабильных и иммуногенных условиях или состоянии. Примеры стабилизаторов включают, без ограничений, сахара, такие как сахароза, лактоза и манноза; сахарные спирты, такие как маннит; аминокислоты, такие как глицин или глутаминовая кислота; и белки, такие как альбумин сыворотки человека или желатин.

Фармацевтические композиции, согласно данному изобретению, могут вводиться любым эффективным, традиционным способом, включая, например, местное применение, пероральный, анальный, влагалищный, внутривенный, внутрибрюшинный, внутримышечный, подкожный, интраназальный, интратрахеальный или внутрикожный способы, среди прочего. В предпочтительном варианте реализации изобретения фармацевтические композиции вводят подкожно или внутримышечно, наиболее предпочтительно внутримышечно.

При терапии или как профилактический способ, активный агент фармацевтической композиции, согласно данному изобретению, может быть введен индивидууму в виде инъекционной композиции, например, как стерильная водная дисперсия, предпочтительно изотоническая.

Альтернативно, композиция, предпочтительно фармацевтическая композиция, может быть изготовлена для местного применения, например, в форме мазей, кремов, лосьонов, глазных мазей, глазных капель, ушных капель, полоскания для ротовой полости, пропитанных повязок и шовных материалов, а также аэрозолей, и может содержать обычные пригодные добавки, включающие, например, консерванты, растворители для содействия проникновению лекарственного средства, и смягчающие средства в виде мазей и

кремов. Дополнительно, такие препараты для местного применения могут содержать совместимые традиционные носители, например, основы кремов или мазей и этанол или олеиновый спирт для лосьонов. Содержание таких носителей может составлять от около 1% до около 98% масс. препарата; чаще он будет составлять до около 80% масс. препарата.

Вдобавок к описанной выше терапии, композиции, согласно данному изобретению, могут быть применены в целом как вещество для лечения ран, чтобы предупредить адгезию бактерий к белкам матрицы, контактирующих с раненой тканью, и для профилактического применения при лечении зубов, как альтернатива или в соединении с антибиотикопрофилактикой.

В предпочтительном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция представляет собой композицию вакцины. Предпочтительно, такая композиция вакцины традиционно находится в инъекционной форме. Традиционные адъюванты могут быть применены для усиления иммунной реакции. Приемлемая единица дозы для вакцинации белковым антигеном для взрослых составляет от 0,02 мкг до 3 мкг антигена на кг массы тела и для детей от 0,2 мкг до 10 мкг антигена на кг массы тела, и такую дозу предпочтительно вводят 1–3 раза с интервалами в 2–24 недели.

При указанном интервале дозы, от соединений, согласно данному изобретению, не ожидается никаких неблагоприятных токсикологических эффектов, которые помешали бы их введению пригодным индивидуумам.

Как дополнительный аспект, изобретение включает наборы, содержащие один или более фармацевтических препаратов для введения субъекту, упакованных таким способом, который облегчает их применение для введения субъектам. В предпочтительном варианте реализации изобретения наборы включают препарат в конечном объеме 2 мл, более предпочтительно, в конечном объеме 1 мл.

В конкретном варианте реализации изобретение включает наборы для продуцирования однократной единицы для введения. Каждый из наборов, в разных аспектах изобретения, включает первый контейнер, содержащий сухой белок, и второй контейнер,

содержащий водный препарат. Дополнительно, в пределах данного изобретения находятся наборы, включающие одно- и многокамерные предварительно заполненные шприцы (например, шприцы с жидкостью и лиошприцы).

В другом варианте реализации изобретения такой набор включает фармацевтический препарат, описанный в данном документе (например, композиция, содержащая терапевтический белок или пептид), упакованный в контейнер, такой как герметически закупоренная бутылка или емкость, с этикеткой, прикрепленной к контейнеру или вложенной в упаковку, на которой описано применение соединения или композиции в практике способа. В одном варианте реализации изобретения фармацевтический препарат упакован в контейнер таким образом, что имеется очень маленький объем свободного пространства в контейнере (например, количество воздуха между жидким препаратом и верхом контейнера). Предпочтительно, объем свободного пространства является незначительным (то есть почти отсутствующим).

В одном аспекте изобретения набор включает первый контейнер, содержащий композицию терапевтического белка или пептида, и второй контейнер, содержащий физиологически приемлемый раствор для разведения композиции. В одном аспекте фармацевтический препарат упакован в однократной форме. Дополнительно, набор необязательно включает устройство, пригодное для введения фармацевтического препарата в соответствии с конкретным способом введения. В некоторых аспектах изобретения набор включает этикетку, в которой описано применение фармацевтических препаратов.

Фармацевтическая композиция может содержать ряд разнообразных антигенов. Примерами антигенов являются сплошные убитые или аттенуированные организмы, субфракции таких организмов, белки или, в их самой простой форме, пептиды. Дополнительно, антигены могут быть распознаны иммунной системой в форме гликозилированных белков или пептидов и могут также представлять собой или содержать полисахариды или липиды. Короткие пептиды могут применяться, поскольку цитотоксичные Т-клетки (ЦТК) распознают антигены в форме коротких, обычно длиной

8–11 аминокислот, пептидов в соединении с главным комплексом гистосовместимости (ГКГ). В-клетки могут распознавать линейные эпитопы, длиной только 4–5 аминокислот, а также трехмерные структуры (конформационные эпитопы).

В предпочтительном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция, в соответствии с третьим аспектом изобретения, дополнительно содержит гипериммунный сывороточно-реакционный антиген против белка *Borrelia* или его активного фрагмента или варианта, такого как, например, антигены, фрагменты и варианты, раскрытые в WO 2008/031133.

В соответствии с данным изобретением, фармацевтическая композиция согласно третьему аспекту может применяться как лекарственное средство, в частности, как вакцина, в частности, в связи с заболеванием или патологическим состоянием, вызванным, связанным или ассоциируемым с *Borrelia*.

Фармацевтическая композиция, согласно данному изобретению, может применяться как лекарственное средство, в частности, как вакцина, в частности, в связи с заболеванием или патологическим состоянием, вызванным, связанным или ассоциируемым с *Borrelia*, более предпочтительно, любыми патогенными видами *Borrelia* и более предпочтительно в способе лечения или профилактике инфекции *Borrelia*, в частности, инфекции *B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. andersoni*, *B. bavariensis*, *B. bissettii*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii*, *B. japonica*, *B. tanukii*, *B. turdi* или *B. sinica*, предпочтительно инфекции *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii* или *B. garinii*.

В связи с этим следует отметить, что разные виды *Borrelia*, содержащие *B. burgdorferi* s.l., охватывают несколько видов и штаммов, включая раскрытые в данном документе. Заболевание, связанное, вызванное или ассоциируемое с бактериальной инфекцией, которую предупреждают и/или лечат в соответствии с данным изобретением, включает боррелиоз Лайма (болезнь Лайма). Последующие аспекты, симптомы, стадии и подгруппы боррелиоза Лайма, а также специфические группы пациентов, которые страдают таким заболеванием, которое также раскрыто в данном документе, в частности, во вступительной части, включены в данный документ

посредством ссылки. В частности, боррелиоз Лайма в целом протекает в виде стадий, с ремиссией и обострениями и разными клиническими проявлениями на каждой стадии. Ранняя стадия 1 инфекции состоит из локализованной инфекции кожи, за ней следует в пределах нескольких дней или недель стадия 2, распространенная инфекция, и через месяцы или годы стадия 3, перманентная инфекция. Однако инфекция является вариабельной; у некоторых пациентов проявляются только локализованные инфекции кожи, у других проявляются только более поздние симптомы болезни, такие как артрит.

В четвертом аспекте данное изобретение относится к способу лечения или профилактики инфекции *Borrelia* у субъекта, который нуждается в этом, причем способ включает стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, в соответствии с третьим аспектом.

Термин «субъект» применяется в данном документе для описания животного, предпочтительно млекопитающего, более предпочтительно человека, для которого раскрыто лечение или способ реализации в соответствии с данным изобретением. Для лечения таких инфекций, состояний или патологических состояний, которые являются специфическими для конкретного животного, такого как пациент-человек, термин «пациент» означает такое конкретное животное. Предпочтительно, субъект является человеком; однако медицинское применение композиции может также включать животных, таких как домашние птицы, включая цыпленка, индюка, утку или гусыню, скот, включая коня, корову или овцу, или домашних животных, включая собак или кошек.

Термин «эффективное количество» применяется в данном документе для описания количества раскрытой фармацевтической композиции, которая может быть применена для индуцирования предусмотренного результата, при применении в способе согласно данному изобретению. В многочисленных аспектах данного изобретения термин «эффективное количество» употребляется в связи с лечением или профилактикой. В других аспектах термин «эффективное количество» просто означает количество агента, дающее результат, который рассматривается как благоприятный или

пригодный, в частности, в способах в соответствии с данным изобретением, в которых заявляется лечение или профилактика инфекции *Borrelia*.

Термин «эффективное количество» относительно описанных в данном документе соединений и композиций применяется в данном документе для описания такого количества соединения в соответствии с данным изобретением, которое вводят пациенту-млекопитающему, в частности, в частности пациенту-человеку, который страдает связанным с *Borrelia* заболеванием, чтобы уменьшить или подавить инфекцию *Borrelia*.

В предпочтительном варианте реализации способ иммунизации субъекта, в соответствии с четвертым аспектом изобретения, включает стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, в соответствии с третьим аспектом данного изобретения.

Способ реализации изобретения включает индуцирование иммунологической реакции у индивидуума с помощью генной терапии или иным образом, путем введения полипептида или нуклеиновой кислоты, в соответствии с данным изобретением *in vivo*, с целью стимулирования иммунологической реакции в форме продуцирования антител или клеточно-опосредованного ответ Т-клеток, или цитокин-продуцирующих Т-клеток, или цитотоксичных Т-клеток, с целью защиты указанного индивидуума от заболевания, независимо от того, возникло заболевание у индивидуума или нет.

Продукты данного изобретения, в частности, полипептиды и нуклеиновые кислоты, преимущественно раскрыты в выделенной форме и могут быть очищены до гомогенного состояния. Термин «выделенный» в данном документе означает выделенный «человеком вручную» из его естественного состояния; то есть, если это происходит в природе, вещество модифицируют или изымают из начального окружения, или осуществляют оба процесса. Например, природная молекула нуклеиновой кислоты или полипептид, естественно собравшиеся в живом организме в его естественном состоянии, не являются «выделенными», но такая же молекула нуклеиновой кислоты или полипептид, выделенные из материалов, которые окружают его в естественном состоянии, являются

«выделенными», в том значении, в котором термин употребляется в данном документе. Как часть выделения или в последующем состоянии, такие молекулы нуклеиновых кислот могут быть присоединены к другим молекулам нуклеиновых кислотных, таким как молекулы ДНК, например, с целью мутагенеза, образования слитых генов и разведения или экспрессии в организме хозяина. Выделенные молекулы нуклеиновых кислот, отдельно или присоединенные к другим молекулам нуклеиновых кислот, таких как векторы, могут быть введены в клетки-хозяева, в культуре или в цельных организмах. Введенные в клетки-хозяева в культуре или в цельных организмах, такие молекулы ДНК все еще являются выделенными, в том значении, в котором термин употребляется в данном документе, поскольку их не может быть в естественной форме или окружении. Таким же образом, молекулы нуклеиновых кислот и полипептидов могут встречаться в композиции, например, препаратах среды, растворах для введения молекул нуклеиновых кислот или полипептидов, например, в клетки, композиции или растворы для химических или ферментных реакций, например, которые не являются природными композициями, таким образом, они остаются выделенными молекулами нуклеиновых кислот или полипептидов в пределах значения указанного термина, который применяется в данном документе.

Данное изобретение не ограничено конкретной методологией, протоколами и реактивами, описанными в данном документе, поскольку они могут варьироваться. Кроме того, терминология, используемая в данном документе, применяется только с целью раскрытия конкретных вариантов и не предназначена для ограничения контекста данного изобретения. В данном документе и добавленной формуле изобретения слова в единственном числе означают также множественное число, если контекст не указывает на иное. Таким же образом, слова «включать», «содержать» и «охватывать» следует интерпретировать как обозначающие включение, а не исключение.

Если не определено иначе, все технические и научные термины и любые акронимы, используемые в данном документе, имеют такие же значения, которые обычно понимает специалист в области

техники. Хотя любые способы и материалы, подобные или равноценные раскрытым в данном документе, могут применяться в реализации данного изобретения, предпочтительными способами и материалами являются описанные в данном документе.

Данное изобретение дополнительно иллюстрируется следующими Фигурами, Таблицами, Примерами и Перечнем последовательностей, из которых могут быть выведены последующие признаки, варианты и преимущества. Таким образом, конкретные обсуждаемые модификации не следует интерпретировать как ограничивающие объем изобретения. Для специалиста в данной области техники будет очевидно, что разнообразные эквиваленты, изменения и модификации могут быть осуществлены без отклонения от объема изобретения, и, таким образом, следует понимать, что указанные равноценные варианты должны быть включены в данное изобретение.

В связи с данным изобретением:

Фиг. 1 иллюстрирует выравнивание аминокислот для серотипов OspA 1-6 из *Borrelia*.

Фиг. 2 схематически иллюстрирует продуцирование гетеродимеров мутантного фрагмента OspA, в соответствии с данным изобретением.

Фиг. 3 схематически иллюстрирует полипептидные компоненты одной из возможных фармацевтических композиций, согласно данному изобретению, содержащей три разные гетеродимера мутантного OspA, то есть «комбинированной вакцины».

Фиг. 4 иллюстрирует химическую структуру Pam₃Cys, пример замещенного жирной кислотой цистеина, такого, который находился бы на N-конце липидированных полипептидов, согласно данному изобретению.

Фиг. 5 иллюстрирует связывание антител мышей, иммунизированных гетеродимерными полипептидами мутантного фрагмента OspA, согласно данному изобретению, с поверхностью клеток *Borrelia* с серотипами OspA 1-6.

Таблица 1 иллюстрирует термическую стабильность свертывания мутантных фрагментов OspA серотипа 2 с типами дисульфидной связи D1-D5 (номенклатуру см. в Таблице A-4), по сравнению с фрагментом OspA дикого типа серотипа 2 без дисульфидных связей

(D0) .

Таблица 2 иллюстрирует защиту мышей от инфекции *B. afzelii* (штамм IS1) по Методу пересадки клеща после иммунизации мутантными фрагментами OspA серотипа 2 с типами дисульфидной связи D1-D5 (номенклатуру см. в Таблице А-4), включая контрольные группы мышей, иммунизированных ФБР, полноразмерным OspA или фрагментом OspA дикого типа серотипа 2 (S2D0-His) .

Таблица 3 иллюстрирует защиту мышей от инфекции *B. afzelii* (штамм IS1) по Методу пересадки клеща после иммунизации липидированными мутантными фрагментами OspA серотипа 2 с типами дисульфидной связи D1, D3 и D4 (Lip-S2D1-His, Lip-S2D3-His и Lip-S2D4-His), включая контрольные группы мышей, иммунизированных ФБР или полноразмерным белком OspA.

Таблица 4 иллюстрирует защитную активность гетеродимеров мутантного OspA, согласно изобретению, на моделях нагрузки *Borrelia* in vivo. Мышей иммунизировали Lip-S1D1-S2D1-His, Lip-S4D1-S3D1-His, Lip-S4D1-S3D1 или Lip-S5D1-S6D1-His и нагружали *Borrelia* с указанным серотипом OspA с помощью способа пересадки клещом или нагрузки с помощью иглы, как указано. Контрольную группу в каждом эксперименте иммунизировали только адъювантом Al(OH)₃.

Таблица 5 иллюстрирует защитную активность комбинированной вакцины, согласно данному изобретению, против нагрузки in vivo *Borrelia* OspA серотипа 1 (штамм N40 в методе нагрузки с помощью иглы) *Borrelia* OspA серотипа 2 (штамм IS1 в методе пересадки клеща). Мышей иммунизировали тремя антигенами Lip-S1D1-S2D1, Lip-S4D1-S3D1 и Lip-S5D1-S6D1 вместе, в соотношении 1:1:1 (комбинированная вакцина), или указанными контрольными антигенами и нагружали *Borrelia* с помощью Метода пересадки клеща или нагрузки с помощью иглы, как указано. Контрольную группу в каждом эксперименте иммунизировали только адъювантом Al(OH)₃.

Фигуры и таблицы, на которые могут быть ссылки в данном документе, описаны подробнее ниже.

Фиг. 1 Выравнивание последовательности аминокислот OspA серотипов 1-6. Выравнивание иллюстрирует, что связанная с мембраной N-концевая часть белка содержит более консервативную

последовательность аминокислот, чем в большей степени контактирующая С-концевая часть.

Фиг. 2 Продуцирование гетеродимера мутанта OspA, согласно данному изобретению, содержащего С-концевые мутантные фрагменты OspA от двух разных серотипов OspA вида *Borrelia*. **(А)** Схематическое представление нуклеиновой кислоты, кодирующей гетеродимер липидированного мутанта OspA. Компоненты, в направлении от 5' до 3', включают кодирующие последовательности для сигнальной последовательности липидации (сигнал Lip), цистеин-содержащий пептид небольшого размера для N-концевой липидации (пептид липидации = LP), С-концевой мутантный фрагмент OspA с двумя не природными остатками цистеина, короткий пептидный линкер (LN1), со следующим вторым С-концевым мутантным фрагментом OspA с двумя не природными остатками цистеина. **(В)** Промежуточный гетеродимер мутантного полипептида OspA содержит возникающий продукт, непосредственно после трансляции конструкта нуклеиновой кислоты. От N- к С-концу данный полипептид состоит из сигнальной последовательности липидации (сигнал Lip), цистеин-содержащего пептида для липидации (LP), мутантного фрагмента OspA с не природной дисульфидной связью, короткого пептидного линкера (LN1), со следующим вторым мутантным фрагментом OspA с не природной дисульфидной связью. **(С)** Концевой гетеродимер липидированного мутантного полипептида OspA после посттрансляционной модификации. Гетеродимер, от N- к С-концу, состоит из короткого цистеин-содержащего пептида, с липидированным N-концевым цистеином (обозначен «Lip»), мутантного фрагмента OspA, стабилизированного дисульфидной связью, пептидного линкера (LN1) и второго фрагмента мутанта OspA, стабилизированного дисульфидной связью. Сигнальная последовательность липидации отщепляется в ходе посттрансляционной модификации полипептида, как проиллюстрировано.

Фиг. 3 Пример предпочтительной фармацевтической композиции, в соответствии с данным изобретением. Три гетеродимера мутантного OspA, каждый из которых содержит модифицированные фрагменты OspA из OspA *Borrelia* двух разных серотипов,

присутствуют в композиции, вместе обеспечивая антигены OspA от OspA *Borrelia* шести разных серотипов. Такая фармацевтическая композиция обеспечивает одновременную иммунизацию против шести серотипов *Borrelia*.

Фиг. 4 Иллюстрация химической структуры Pam₃Cys, пример жирнокислотного замещения N-концевого цистеина полноразмерного белка OspA дикого типа, а также мономеров и липидированных гетеродимеров мутантного фрагмента OspA, согласно изобретению. В ходе посттрансляционной модификации полноразмерного белка OspA или полипептидов, согласно изобретению, N-концевая сигнальная последовательность липидации отщепляется, и жирные кислоты, чаще всего, три пальмитоильные фрагмента («Pam₃»), ферментным способом ковалентно присоединяются к N-концевому остатку цистеина (атом серы, «S», указан стрелкой). Остаточные остатки полипептидной цепи, расположенные в направлении С-конца относительно остатка Pam₃Cys, представлены «Xn». (Модифицировано из Bouchon, et al. (1997) Analytical Biochemistry 246: 52-61.)

Фиг. 5 Связывание антител от иммунизированных мышей с поверхностью клетки спирохет *Borrelia*. Мыши были иммунизированы трижды по 1 мкг каждого из указанных антигенов: липидированные и меченные His полноразмерные белки OspA серотипов OspA 1-6; только Lip-S1D1-S2D1, Lip-S4D1-S3D1 или Lip-S5D1-S6D1; или Lip-S1D1-S2D1, Lip-S4D1-S3D1 и Lip-S5D1-S6D1 вместе в соотношении 1:1:1 («комбинированная вакцина») с интервалом в 2 недели, и сыворотку собирали через неделю после введения последней дозы. Несколько разведений сыворотки были протестированы относительно связывания с поверхностью клеток *Borrelia* посредством окрашивания клетки и проточной цитометрии. Наблюдаемые значения интенсивности флуоресценции при окрашивании сывороткой, полученной от контрольных мышей, иммунизированных только адъювантом Al(OH)₃, вычитали, чтобы объяснить неспецифическое связывание. (Применяли следующие виды *Borrelia*: *B. burgdorferi*, OspA серотипа 1, штамм N40; *B. afzelii*, OspA серотипа 2, штамм «C»; *B. garinii*, OspA серотипа 3, штамм «D»; *B. bavariensis*, OspA серотипа 4, штамм Fin; *B. garinii*, OspA серотипа 5, штамм «E»; *B. garinii*, OspA серотипа 6, штамм «B».)

Таблица 1

**Термостабильность нелипидированных, меченных His мутантных
фрагментов *B. afzelii* K78 OspA серотипа 2 с другим
расположением дисульфидных связей.**

Мутантные фрагменты OspA серотипа 2 с разными типами связи при остатке цистеина (см. Таблицу А-4) были солюбилизованы в 50 мМ Трис-HCl, 150 мМ NaCl (pH 8,0) и протестированы на термостабильность, в сравнении с фрагментами OspA серотипа 2 дикого типа (S2D0). Присутствие дисульфидной связи приводило к повышению температуры плавления, по сравнению с фрагментами OspA серотипа 2 дикого типа.

Мутантный фрагмент OspA серотипа 2	SEQ ID NO:	Температура плавления (°C)
S2D0-His*	1	47,6
S2D1-His	2	70,4
S2D2-His	3	54,6
S2D3-His	4	58,6
S2D4-His	5	58,4
S2D5-His	6	53,8

*См. номенклатуру в Таблице А-4 и А-5.

Таблица 2

Защитная активность уменьшенных доз нелипидированных, меченных His мутантных фрагментов OspA серотипа 2 против инфекции *B. afzelii* (серотип 2) в Методе пересадки клеща

Пять нелипидированных, меченных His фрагментов OspA серотипа 2 были протестированы относительно защитной активности в двух разных дозах (30 мкг и 5 мкг), по сравнению с фрагментами OspA серотипа 2 дикого типа. Группы мышей, иммунизированных только адъювантом Al(OH)₃ или полноразмерным нелипидированным OspA серотипа 2, служили в виде отрицательного и положительного контроля, соответственно. Все антигены были мечены His и нелипидированы. Приведенные данные объединяют результаты нескольких экспериментов, выполненных в идентичных условиях.

Иммуноген	Пересадка клеща (OspA серотипа 2: <i>B. afzelii</i> , штамм IS1)	3×30 мкг (11 экспериментов)	3×5 мкг (4 эксперимента)
		Инфицированные/ общее количество	Инфицированные/ общее количество
Только адъювант Al(OH) ₃	Клещ (OspA-ST2)	58/62	20/23
Полноразмерный OspA K78-His (SEQ ID NO: 209)	Клещ (OspA-ST2)	1/72	1/25
S2D0-His (SEQ ID NO: 1)	Клещ (OspA-ST2)	15/20	8/16
S2D1-His (SEQ ID NO: 2)	Клещ (OspA-ST2)	1/26	1/25
S2D2-His (SEQ ID NO: 3)	Клещ (OspA-ST2)	0/26	4/26
S2D3-His (SEQ ID NO: 4)	Клещ (OspA-ST2)	0/34	1/21
S2D4-His (SEQ ID NO: 5)	Клещ (OspA-ST2)	2/30	4/27

S2D5-His (SEQ ID NO: 6)	Клещ (OspA-ST2)	5/35	2/11
----------------------------	-----------------	------	------

Таблица 3

Защитная активность уменьшенных доз липидированных, меченных His мутантных фрагментов OspA серотипа 2 против инфекции *B. afzelii* в Методе пересадки клеща.

Три липидированных, меченных His мутантных фрагмента OspA серотипа 2 с разными типами дисульфидной связи были протестированы относительно защитной активности в трех разных дозах (3,0 мкг, 1,0 мкг и 0,3 мкг). Группы мышей, иммунизированных только адъювантом Al(OH)₃ или нелипидированным полноразмерным OspA серотипа 2, служили в виде отрицательного и положительного контроля, соответственно. Приведенные данные объединяют результаты нескольких экспериментов, выполненных в идентичных условиях.

Иммуноген	Пересадка клеща (OspA серотипа 2: <i>B. afzelii</i> , штамм IS1)	3×3,0 мкг (5 экспериментов)	3×1,0 мкг (5 экспериментов)	3×0,3 мкг (4 эксперимента)
		Инфицированные/ общее количество	Инфицированные/ общее количество	Инфицированные/ общее количество
Только адъювант Al(OH) ₃ (контроль для всех доз)	Клещ (OspA-ST2)	58/59	–	–
Полноразмерный OspA K78-His (SEQ ID NO: 209)	Клещ (OspA-ST2)	0/14	0/21	1/20
Lip-S2D1-His (SEQ ID NO: 141)	Клещ (OspA-ST2)	0/17	5/31	1/29

Lip-S2D3-His (SEQ ID NO: 143)	Клещ (OspA-ST2)	1/15	1/12	5/19
Lip-S2D4-His (SEQ ID NO: 144)	Клещ (OspA-ST2)	0/8	0/25	0/34

Таблица 4

**Защитная активность гетеродимеров мутантного OspA,
согласно изобретению, против *Borrelia in vivo* в Методах
нагрузки с помощью иглы или пересадки клеща.**

Группы мышей были иммунизированы трижды с двухнедельными интервалами указанными дозами гетеродимера OspA или только адъюванта Al(OH)₃. Применяли иммуногены Lip-S1D1-S2D1-His (нагрузка *Borrelia* OspA-ST1, Эксперименты 1-3), Lip-S1D1-S2D1-His, Lip-S4D1-S3D1-His и Lip-S5D1-S6D1-His, отдельно (нагрузка *Borrelia* OspA-ST2, Эксперименты 4-6), Lip-S4D1-S3D1 (нагрузка *Borrelia* OspA-ST4, Эксперименты 7 и 8) и Lip-S5D1-S6D1-His (нагрузка *Borrelia* OspA-ST5, Эксперименты 9 и 10; нагрузка *Borrelia* OspA-ST6, Эксперименты 11 и 12). Иммунизированных мышей нагружали через две недели после последней иммунизации по Методу нагрузки с помощью иглы или пересадки клеща, как указано.

Иммуноген	Доза	Нагрузка с помощью иглы (OspA серотипа 1: <i>B. burgdorferi</i> s.s., штамм N40)	Инфицированные/общее количество		
			Эксп. 1	Эксп. 2	Эксп. 3
Lip-S1D1-S2D1-His (SEQ ID NO: 49)	3×5,0 мкг	Игла (OspA-ST1)	0/10***	0/9***	4/10**
Только адъювант Al(OH) ₃	–	Игла (OspA-ST1)	10/10	8/10	10/10

Иммуноген	Доза	Пересадка клеща (OspA серотипа 2: B.afzelii, штамм IS1)	Эксп. 4	Эксп. 5	Эксп.6
Lip-S1D1-S2D1-His (SEQ ID NO: 49)	3×2,0 мкг	Клещ (OspA-ST2)	0/10***	0/9***	0/6***
Lip-S4D1-S3D1-His (SEQ ID NO: 81)	3×2,0 мкг	Клещ (OspA-ST2)	0/9***	2/7*	0/6***
Lip-S5D1-S6D1-His (SEQ ID NO: 65)	3×2,0 мкг	Клещ (OspA-ST2)	0/7***	0/9***	0/6***
Только адъювант Al(OH) ₃	-	Клещ (OspA-ST2)	9/9	8/8	7/7
Иммуноген	Доза	Нагрузка с помощью иглы (OspA серотипа 4: B. bavariensis, штамм Scf)	Эксп. 7	Эксп. 8	
Lip-S4D1-S3D1 (SEQ ID NO: 194)	3×5,0 мкг	Игла (OspA-ST4)	2/10**	1/10***	-
Только адъювант Al(OH) ₃	-	Игла (OspA-ST4)	9/10	9/10	-
Иммуноген	Доза	Нагрузка с помощью иглы (OspA серотипа 5: B. garinii)	Эксп. 9	Эксп. 10	

Lip-S5D1-S6D1-His (SEQ ID NO: 65)	3×5,0 мкг	Игла (OspA-ST5)	1/10	2/10	–
Только адъювант Al(OH) ₃	–	Игла (ST5)	6/10	6/10	–
Иммуноген	Доза	Нагрузка с помощью иглы (OspA серотипа 6: B. garinii)	Эксп. 11	Эксп. 12	
Lip-S5D1-S6D1-His (SEQ ID NO: 65)	3×5,0 мкг	Игла (OspA-ST6)	2/10**	2/10***	–
Только адъювант Al(OH) ₃	–	Игла (OspA-ST6)	9/10	10/10	–

Значение *P*; точный тест Фишера, двухсторонний. *значимое (<0,05), **более значимое (<0,01), ***наиболее значимое (<0,001).

Таблица 5

**Защитная активность комбинированной вакцины на основе
гетеродимера мутантного OspA, согласно изобретению, против
нагрузки *Borrelia* OspA серотипа 1 и серотипа 2**

Группы мышей были иммунизированы трижды указанными дозами иммуногена или только адъюванта $Al(OH)_3$ с двухнедельными интервалами. Применяли следующие иммуногены: комбинация гетеродимеров мутантного OspA Lip-S1D1-S2D1, Lip-S4D1-S3D1 и Lip-S5D1-S6D1 в соотношении 1:1:1 (комбинированная вакцина), Lip-S1D1-S2D1, Lip-OspA1-His и химерный OspA ST1/ST2. Иммунизированных мышей нагружали через две недели после последней иммунизации с помощью Метода пересадки клеща (ST2, Эксперименты 13 и 14) или нагрузки с помощью иглы (ST1, Эксперименты 15 и 16).

Иммуноген	Доза	Нагрузка клещом (OspA серотипа 2: <i>B. afzelii</i> , штамм IS1)	Инфицированные/ общее количество	
			Эксп. 13	Эксп. 14
Lip-S1D1-S2D1 (SEQ ID NO: 186)	3×5,0 мкг	Клещ (OspA-ST2)	0/6***	0/7**
Комбинированная вакцина: Lip-S1D1-S2D1 (SEQ ID NO: 186) Lip-S4D1-S3D1 (SEQ ID NO: 194) Lip-S5D1-S6D1 (SEQ ID NO: 190)	3×5,0 мкг 3×5,0 мкг 3×5,0 мкг	Клещ (OspA-ST2)	0/9***	0/6**
Только адъювант $Al(OH)_3$	–	Клещ (OspA-ST2)	7/7	6/7

Иммуноген	Доза	Нагрузка с помощью иглы (OspA серотипа: В. burgdorferi s.s., штамм ZS7)	Эксп. 15	Эксп. 16
Lip-S1D1-S2D1 (SEQ ID NO: 186)	3×1,0 мкг	Игла (OspA-ST1)	0/10***	0/10***
Lip-OspA1-His (SEQ ID NO: 210)	3×1,0 мкг	Игла (OspA-ST1)	0/10***	0/10***
Химерный OspA ST1/ST2 (SEQ ID NO: 212)	3×1,0 мкг	Игла (OspA-ST1)	0/10***	0/10***
Комбинированная вакцина: Lip-S1D1-S2D1 (SEQ ID NO: 186) Lip-S4D1-S3D1 (SEQ ID NO: 194) Lip-S5D1-S6D1 (SEQ ID NO: 190)	3×1,0 мкг 3×1,0 мкг 3×1,0 мкг	Игла (OspA-ST1)	0/10***	0/10***
Только адъювант Al (OH) ₃	-	Игла (OspA-ST1)	10/10	10/10

Значение P; точный тест Фишера, двухсторонний. *значимое (<0,05), **более значимое (<0,01), ***наиболее значимое (<0,001).

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Оценка термостабильности мутантных фрагментов OspA серотипа 2

Экспериментальная часть

Термостабильность

Значения температуры T_m плавления мономеров нелипидированного мутантного фрагмента OspA серотипа 2 определяют в флуоресцентном анализе термического сдвига, описанном Pantoliano, et al. (J. Biomol Screen 6:429–440 (2001)). Окрашивание белкового геля флуоресцентным красителем SYPRO® Orange (поставляется как 5000x концентрат в ДМСО от Sigma, США) SYPRO® используют для контроля разворачивания белка. В каждой лунке соединяют 7,5 мкл SYPRO® Orange (разведение запасного раствора 1:1000) и 17,5 мкл раствора белка (1 мкг или 2 мкг) в буфере. Образцы белка нагревают от 25°C до 95°C со скоростью 0,2°C/10 секунд в системе выявления в реальном времени CFX96 (Bio-Rad, США) и контролируют изменения флуоресценции. Интенсивность флуоресценции измеряют при длине волны возбуждения и эмиссии 490 и 575 нм, соответственно. T_m определяют с помощью программы Bio-Rad CFX Manager 2.0. Значение T_m меченых His нелипидированных мутантных фрагментов OspA серотипа 2 измеряют в четырех разных буферных системах: 50 mM Трис-HCl, 150 mM NaCl (pH 9,0); 50 mM Трис-HCl, 150 mM NaCl (pH 8,0); фосфатный буферный раствор (ФБР, pH 7,4); и 25 mM HEPES, 150 mM NaCl (pH 6,5), используя как контроль нелипидированные фрагменты (S2D0) OspA серотипа 2 дикого типа.

Результаты

Во всех случаях, мутантные фрагменты OspA серотипа 2 с введенной связью при остатке цистеина имели более высокую T_m , чем фрагменты OspA серотипа 2 дикого типа (S2D0) (см. Таблицу 1). T_m определена в четырех разных буферных системах с подобными результатами (данные для белков, растворенных в 50 mM Трис-HCl, 150 mM NaCl (pH 8,0) приведенные в Таблице 1), указывая на то, что стабильность белков является подобной в широком интервале pH. Такой результат усиливает значимость гипотезы о том, что

введенная дисульфидная связь стабилизирует фрагмент OspA.

Пример 2. Оценка защитной активности мономеров меченого His, нелипидированного мутантного фрагмента OspA серотипа 2 в Методе пересадки клеща (ST2, *B. afzelii*)

Экспериментальная часть

Клонирование и экспрессия рекомбинантных белков

Фрагменты OspA серотипа 2 дикого типа, а также мутантные фрагменты OspA серотипа 2 с типами связи при остатке цистеина 1–5 (SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно) были кодон-оптимизованы для экспрессии в *E. coli* GenScript, США. Для целей очистки в нелипидированные мутантные фрагменты OspA серотипа 2 вводят метки His на С-конце. Фрагменты гена клонируют в вектор pET28b(+) (Novagen, США), содержащий кассету резистентности к канамицину, а также промотор T7. Момеры экспрессируют в клетках BL21 Star™ (DE3) (Invitrogen, США) при 37°C путем добавления ИПТГ. Клетки собирают после центрифугирования на протяжении 4 часов, и гранулу хранят при –70°C до 12 месяцев перед последующей обработкой.

Очистки мономеров нелипидированных, меченых His белков OspA дикого типа и мутантных фрагментов

Клетки разрушают механическим способом путем гомогенизации с высоким давлением, растворимую фракцию, содержащую меченые His фрагменты OspA, наносят на колонку Ni-сефарозы (Ni Sepharose™ 6 Fast Flow; GE Healthcare, Великобритания), и меченые His фрагменты OspA элюируют с градиентом имидазола (0–250 мМ). Объединенные в пул фракции дополнительно очищают на гель-фильтрационной колонке (Superdex 200, GE Healthcare), и дальше на колонке обмена буфера (Sephadex G-25, GE Healthcare). Значение пиков меченого His фрагмента OspA объединяют в пул на основании аналитической эксклюзионной колонки и обращенно-фазовой хроматографии. После стерилизующей фильтрации, очищенные белки хранят при –20°C до изготовления препарата.

Иммунизация мышей

Мышей-самок СЗН/HeN ($H-2^k$) используют для всех исследований (Harlan, Италия). Перед каждой нагрузкой, в группах по 5 мышей

возрастом 8 недель отбирали образцы крови через хвостовую вену, готовили образцы сыворотки к иммунизации и объединяли в пул. Пять нелипидированных белков мутантного фрагмента OspA серотипа 2 (S2D1-5, SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно) тестируют в 15 отдельных экспериментах. Три иммунизации путем подкожного (п/к) введения 100 мкл проводят с интервалом в 2 недели. Используемые дозы составляют 30 и 5 мкг соответствующего белка, протестированные в 11 и 4 экспериментах соответственно. Все препараты содержат алюминия гидроксид ($\text{Al}(\text{OH})_3$) в конечной концентрации 0,15%. Через неделю после третьей иммунизации отбирают образцы крови и готовят образцы гипериммунной сыворотки. В каждый эксперимент включают 1 группу, которой вводят инъекционным способом фосфатный буферный раствор, содержащий $\text{Al}(\text{OH})_3$, как отрицательный контроль, и 1 группу мышей, иммунизированных S2D0, С-концевым фрагментом OspA дикого типа с *B. afzelii*, штамм K78 (SEQ ID NO: 1). Другую группу, иммунизированную нелипидированным полноразмерным белком OspA дикого типа с *B. afzelii*, штамм K78 (SEQ ID NO: 209), также введенным в препарат с 0,15% $\text{Al}(\text{OH})_3$, включают как положительный контроль к каждому исследованию на животных. Все животные опыты осуществляются в соответствии с Австрийским законом (BGB1 Nr. 501/1989) и одобренные «Magistratsabteilung 58».

Нагрузка клещом иммунизированных мышей и сбора сыворотки и тканей (в данном документе имеет название «Метод нагрузки клещом»)

Нагрузку клещом иммунизированных мышей осуществляют через две недели после последней иммунизации. Для нагрузки иммунизированных мышей *B. afzelii*, волосы на спине каждой мыши удаляют с помощью крема Veet® (Reckitt Benckiser, Великобритания) и слабо вентилируемый контейнер приклеивают к коже суперклеем (Pattex, Германия). Далее, одну или две куколки *I. ricinus*, инфицированные *B. afzelii*, штамм IS1, пересаживают на мышь, позволяют присоединиться и питаться до истощения. Статус питания контролируют ежедневно для каждого индивидуального клеща, и только мыши, из которых был собран по меньшей мере один полностью накормленный клещ, входят к конечной выборке. Не

делали разницы между мышами, из которых был собран один или два полностью накормленных клеща.

Через 6 недель после пересадки клеща, кровь собирают орбитальной пункцией, образцы конечной сыворотки изготавливают и используют для анализа VlsE ТИФА, чтобы определить статус инфицирования. Далее мышей умерщвляют сдвигом шейных позвонков, и одно ухо каждой мыши собирают, вытягивают ДНК и поддают ее анализу методом вложенной ПЛР, для идентификации *Borrelia* в ткани.

Результаты инфицирования

Только мыши, в которых пересаженный клещ(и) был полностью накормлен и мог быть собран, входят к конечной выборке эксперимента. Мышей умерщвляют через 6 недель после пересадки клеща, и собирают органы и конечные образцы сыворотки. Конечный итог относительно инфицирования основывается на двух разных анализах (вложенная ПЛР, направленная на межгенную распорку 16S-23S, и VlsE (IR6) ТИФА, как детально описано ниже).

Вложенная ПЛР, направленная на межгенную распорку 16S-23S

Одно ухо каждой мыши поддают экстракции ДНК и очистке с использованием набора для крови и тканей DNeasy (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкциями производителя, со следующей модификацией. Каждое ухо переваривают на протяжении ночи при 60°C в рекомбинантной протеинкиназе K, категории «для ПЛР» (Roche, 14-22 мг/мл). ДНК элюируют в 50 мкл стерильной деминерализированной воде и хранят при -20°C до следующего анализа. Как отрицательный контроль, одну пустую колонку очистки включают в каждый цикл экстракции и очистки ДНК, и элюат обрабатывают вложенной ПЛР. Осуществляют скрининг всех экстрактов ДНК на присутствие ДНК *Borrelia* за методикой вложенной ПЛР, включающей 40 циклов при 94°C длительностью 30 секунд, 56°C длительностью 30 секунд, и 72°C длительностью 60 секунд с применением праймеров; Прямой вложенный 5'-GTATGTTTAGTGAGGGGGGTG-3' (SEQ ID NO: 26) и Обратный вложенный 5'-GGATCATAGCTCAGGTGGTTAG-3' (SEQ ID NO: 27). Из конечного объема реакции 10 мкл, 1 мкл используют как шаблон для реакции

вложенной ПЛР. Стадия вложенной ПЛР включает 25 циклов при 94°C длительностью 30 секунд, 60°C длительностью 30 секунд и 72°C длительностью 60 секунд, с использованием праймеров; Прямой вложенный 5'-AGGGGGGTGAAGTCGTAACAAG-3' (SEQ ID NO: 28) и Обратный вложенный 5'-GTCTGATAAACCTGAGGTCGGA-3' (SEQ ID NO: 29). Из конечного объема реакции, 5 мкл разделяют на 1% геля агарозы, содержащий этидия бромид, и ленты визуализируют в УФ-свете.

В каждом анализе ПЛР ДНК, очищенную из выращенной *in vitro* культуры *B. afzelii*, штамм K78, используют как шаблон положительного контроля. Дополнительно, фосфатный буферный раствор используют вместо экстрагированной ДНК как отрицательный контроль. 5 мкл конечного продукта разделяют на 1% геля агарозы, содержащий этидия бромид, и группы визуализируют в УФ-свете.

ТИФА с невариабельным участком 6 (IR6) белка с подобной Вариабельному основному белку Последовательностью E (Vlse)

Для анализа используют биотинилированный пептид 25-mer (MKKDDQIAAAMVLRGMAKDQGQFALK) (SEQ ID NO: 30), полученный из последовательности *B. garinii*, штамм IP90 (Liang FT, et al. (1999) J Immunol. 163:5566-73). Предварительно покрытые стрептавидином 96-луночные планшеты ТИФА (Nunc, Дания) покрывают 100 мкл/лунку биотинилированного пептида (1 мкг/мл) в фосфатном буферном растворе с добавлением 0,1% Твина 20 (ФБР/0,1Т). Планшеты инкубируют на протяжении ночи при 4°C. После покрытия пептидом, планшеты промывают один раз ФБР/0,1Т. Далее планшеты блокируют на протяжении 1 часа при комнатной температуре (RT) 100 мкл/лунку ФБР+2% альбумина телячьей сыворотки, после чего опять промывают ФБР/0,1Т. Реактивность сывороток после нагрузки на пептид тестируют в разведениях 1:200, 1:400 и 1:800 в ФБР+1% альбумина телячьей сыворотки. Планшеты инкубируют на протяжении 90 минут при RT перед промыванием трижды ФБР/0,1Т. Далее в каждую лунку добавляют 50 мкл 1,3 мкг/мл поликлонального кроличьего анти-мышинного IgG, конъюгированного с пероксидазой хрена (ПХ) (Dako, Дания) в ФБР+1% альбумина телячьей сыворотки. Далее планшеты инкубируют на протяжении 1 часа при RT. После трех промываний ФБР/0,1Т, добавляют 2,2'-азинобис[3-

этилбензтиазолин-6-сульфониевую кислоту] (АВТС, 50 мкл/лунку) как субстрат (Sigma-Aldrich, США), и цвету позволяют проявиться на протяжении 30 минут. Оптическую густоту измеряют на длине волны 405 нм. Все образцы сыворотки тестируют в двойном повторении; отрицательный контроль содержит ФБР вместо сыворотки, а также планшеты, не покрытые пептидом. Образцы сыворотки мышей с доказанной позитивной на инфекцию *B. afzelii* культурой используют как положительный контроль.

Результаты

Уровни защиты в способе нагрузки клещом

Высокие уровни защиты наблюдаются для всех пяти стабилизированных фрагментов OspA *B. afzelii* в обеих исследованных дозах (30 мкг и 5 мкг, см. Таблицу 2). Высокая частота инфицирования в контрольной группе ФБР указывает на то, что клещи были инфицированы с высокой частотой. Дополнительно, положительный контроль, нелипидированный полноразмерный OspA с *B. afzelii*, штамм K78, демонстрировал наивысшую защиту. Вместе указанные контрольные группы указывают на высокую надежность результатов эксперимента.

Результаты относительно защиты, полученные из экспериментов с исследованием доз 30 мкг (в целом 11 экспериментов) и 5 мкг (в целом 4 эксперимента) просуммированные в Таблице 2. Два метода, которые использовали для подтверждения инфицирования, а именно VlsE ТИФА и вложена ПЛР, давали фактически одинаковые результаты (дозы не приведены), демонстрируя ошибкоустойчивость указанных способов получения результата для оценки инфицирования в Методе нагрузки клещом.

Пример 3. Оценка защитной активности меченых His, липидированных мономеров мутантных фрагментов OspA серотипа 2 против нагрузки *Borrelia in vivo* в Методе нагрузки клещом (ST2, *B. afzelii*)

Экспериментальная часть

Клонирование и экспрессия меченых His, липидированных белков мутантного фрагмента OspA

Мутантные фрагменты OspA серотипа 2 с типами связи при остатке цистеина 1, 3 и 4 (SEQ ID NO: 141, 143 и 144,

соответственно) модифицируют введением сигнальной последовательности липидации, полученной из OspA (SEQ ID NO: 14), которая следует непосредственно в направлении С-конца за пептидом CKQN (SEQ ID NO: 211), чтобы обеспечить N-концевой цистеин для липидации. Все мутантные фрагменты OspA метят С-концевым гистидином для целей очистки. Фрагменты гена клонируют в вектор (Novagen) pET28b(+), содержащий кассету резистентности к канамицину, а также промотор T7. Липидированные мономеры экспрессируют в клетках (Invitrogen) BL21 Star™(DE3) и после индуцирования ИПТГ, температуру роста клеток снижают с 37°C до 25°C, чтобы способствовать эффективному посттрансляционному процессингу белков. Клетки собирают после этого центрифугирования на протяжении 4 часов, и гранулу хранят при -70°C до 12 месяцев перед последующей обработкой.

Очистка меченых His, липидированных мономерных белков дикого типа и мутантных фрагментов OspA

Клетки разрушают механическим способом гомогенизацией с высоким давлением, и меченые His, липидированные мономерные полипептиды фрагмента OspA обогащают в липидной фракции с помощью разделения фаз, используя Тритона X-114 как детергент. Далее, фракцию разведенного детергента (в 20–30 раз) наносят на колонку Ni-сефарозы (Ni Sepharose™ 6 Fast Flow; GE Healthcare), и меченые His, липидированные фрагменты OspA элюируют с градиентом элюации имидазола (0–250 мМ). Объединенные в пул фракции дополнительно очищают на гель-фильтрационной колонке (Superdex 200, GE Healthcare), и дальше на колонке с обменом буфера (Sephadex G-25, GE Healthcare). Значение пиков меченого His, липидированного фрагмента OspA объединяют в пул на основании аналитической эксклюзионной колонки и обращенно-фазовой хроматографии. После стерилизующей фильтрации, очищенные белки хранят при -20°C до изготовления препарата.

Иммунизация мышей

Три липидированных мутантных белка OspA (Lip-S2D1-His, Lip-S2D3-His и Lip-S2D4-His) экспрессируют и очищают, как изложено выше. Исследование защиты *in vivo* осуществляют, как описано в

Примере 2, с применением только адъюванта $Al(OH)_3$ и нелипидированного полноразмерного OspA серотипа 2 как отрицательного и положительного контроля, соответственно. Все иммуногены содержат 0,15% $Al(OH)_3$. Мышам трижды вводят инъекционным способом подкожно с интервалом 2 недели препараты, содержащие 3,0 мкг, 1,0 мкг или 0,3 мкг антигена и нагружают инфицированными *B. afzelii* клещами (штамм IS1) через 2 недели после последней иммунизации. Мышей умерщвляют через 6 недель после нагрузки клещом и оценивают инфицирование.

Результаты

Уровни защиты в методе нагрузки клещом

Все три липидированные мутантные фрагмента OspA обеспечивают высокий уровень защиты от нагрузки *B. afzelii*, даже в самой низкой исследованной дозе (Таблица 3). Частота инфицирования у мышей, иммунизированных только адъювантом $Al(OH)_3$, была высокой, указывая на то, что частота инфицирования клещей была высокой. Антиген положительного контроля, нелипидированный полноразмерный OspA из *B. afzelii*, штамм K78, также обеспечивал высокую степень защиты. Взятые вместе, данные контрольные группы указывают на высокую надежность способа инфицирования, и, таким образом, на высокий уровень доверия к результатам, которые наблюдались после иммунизации липидированными мутантными фрагментами OspA.

Пример 4. Оценка защитной активности гетеродимеров мутантного OspA согласно изобретению против нагрузки *Borrelia in vivo* в Методе нагрузки с помощью иглы или нагрузки клещом

Экспериментальная часть

Клонирование и экспрессия гетеродимеров меченых His, липидированных мутантных фрагментов OspA

Мономеры мутантных фрагментов OspA из *B. burgdorferi* s.s., штамм B31, *B. afzelii*, штамм K78, *B. garinii*, штамм PBr, *B. bavariensis*, штамм PBi, *B. garinii*, штамм PHEi, и *B. garinii*, штамм DK29, были кодон-оптимизированные для экспрессии в *E. coli* GenScript, США. hLFA-1-подобный эпитоп (как 164-174, SEQ ID NO: 17) OspA из *B. burgdorferi* s.s., штамм B31, был заменен не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND из *B. afzelii*, штамм K78 (SEQ ID NO: 18). Сигнальная последовательность липидации,

прибавленная к гетеродимерам мутантного фрагмента OspA, полученная из основного внешнего липопротеина мембраны *E. coli*, Lpp, и следует непосредственно в направлении С-конца по отношению к пептиду CSS, чтобы обеспечить N-концевой цистеин для липидации. Гетеродимеры мутантного фрагмента OspA генерируют, объединяя разные мономеры мутантных фрагментов OspA, как изложено выше, через последовательность линкера длиной 21 аминокислота, полученную из двух отдельных участков петли N-концевой половины OspA из *B. burgdorferi* s.s., штамм B31 («LN1»; как 65-74 и как 42-53 с заменой аминокислоты D53S, SEQ ID NO: 184). Гетеродимеры конструируют с меткой His для целей очистки. Фрагменты гена клонируют в вектор (Novagen) pET28b(+), содержащий кассету резистентности к канамицину, а также промотор T7. Липопротеины стабилизированных гетеродимеров экспрессируют в клетках BL21 Star™ (DE3) (Invitrogen) и после индукции ИПТГ, температуру культивирования клеток снижают от 37°C к 25°C, чтобы способствовать эффективному посттрансляционному процессингу белков. Клетки собирают после центрифугирования на протяжении 4 часов, и гранулу хранят при -70°C до 12 месяцев перед последующей обработкой.

Очистка липидированных гетеродимеров меченого His мутантного фрагмента OspA

Клетки разрушают механическим способом гомогенизацией с высоким давлением, и меченые His, липидированные гетеродимеры мутантного фрагмента OspA обогащают в липидной фракции с помощью разделения фаз, используя Тритона X-114 как детергент. Далее, фракцию разведенного детергента (в 20-30 раз) наносят на колонку Ni-сефарозы (Ni Sepharose™ 6 Fast Flow; GE Healthcare), и меченые His, липидированные фрагменты OspA элюируют с градиентом элюации имидазола (0-250 мМ). Объединенные в пул фракции дополнительно очищают на гель-фильтрационной колонке (Superdex 200, GE Healthcare), и дальше на колонке с обменом буфера (Sephadex G-25, GE Healthcare). Значение пиков гетеродимера меченого His, липидированного мутантного OspA объединяют в пул на основании аналитической эксклюзионной колонки и обращенно-

фазовой хроматографии. После стерилизующей фильтрации, очищенные белки хранят при -20°C до изготовления препарата.

Клонирование и экспрессия гетеродимеров без метки His, липидированного мутантного фрагмента OspA

Конструкты, полученные, как описано выше, используют для генерации конструктов без метки His путем введением стоп-кодона с помощью ПЛР амплификации. Фрагменты гена клонируют в вектор (Merck Millipore) pET28b(+), содержащий кассету резистентности к канамицину, а также промотор T7. Липопротеины стабилизированных гетеродимеров экспрессируют в клетках BL21 Star™ (DE3) (Invitrogen), и после индуцирования ИПТГ, температуру культивирования клеток снижают с 37°C до 25°C , чтобы способствовать эффективному посттрансляционному процессингу белков. Клетки собирают после центрифугирования на протяжении 4 часов, и гранулу хранят при -70°C до 12 месяцев перед последующей обработкой.

Очистка липидированных гетеродимеров мутантного фрагмента OspA без метки His

Клетки разрушают механическим способом гомогенизацией с высоким давлением, и липидированные гетеродимеры мутантного фрагмента OspA обогащают в липидной фракции с помощью разделения фаз, используя Тритона X-114 как детергент. Далее, фракцию разведенного детергента поддают анионообменной хроматографии в несвязывающем режиме. Полученный поток направляют на колонку с гидроксиапатитом (Bio-Rad), и липидированные белки элюируют из колонки с использованием линейного градиента соли. Элут подвергают последующей очистке на колонке с ДЭАЭ-Сефарозой (GE Healthcare) в несвязывающем режиме и далее на гель-фильтрационной колонке (Superdex 200, GE Healthcare) для обмена буфера. Значение пиков липидированного гетеродимера мутантного OspA объединяют в пул на основе аналитической эксклюзионной колонки и НЛС-ПАГЕ. После стерилизующей фильтрации, очищенные белки хранят при -20°C до изготовления препарата.

Иммунизация мышей

Мышей-самок C3H/HeN (Janvier, Франция) используют для всех

исследований. Перед каждой нагрузкой, в группах по 10 мышей возрастом 8 недель отбирают образцы крови через лицевую вену, готовят образцы сыворотки к иммунизации и объединяют в пул. Три иммунизации путем подкожного (п/к) введения 100 мкл проводят с интервалом 2 недели. Каждая доза содержит количество иммуногена, приведенную в Таблице 4 (доза) с алюминия гидроксидом ($Al(OH)_3$) в конечной концентрации 0,15%. Через неделю после третьей иммунизации отбирают образцы крови из лицевой вены и готовят образцы гипериммунной сыворотки. В каждый эксперимент включают 1 группу, иммунизированную только $Al(OH)_3$, как отрицательный контроль. Все животные опыты осуществляются в соответствии с Австрийским законом (BGB1 Nr. 501/1989) и одобрены «Magistratsabteilung 58».

Нагрузка клещом иммунизированных мышей и сбора сыворотки и тканей (в данном документе имеет название «Метод нагрузки клещом»)

Для нагрузки иммунизированных мышей *B. afzelii*, волосы на спине каждой мыши удаляют с помощью крема Veet® (Reckitt Benckiser) и слабо вентилируемый контейнер приклеивают к коже суперклеем (Pattex). Дальше одну или две куколки *I. ricinus*, инфицированные *B. afzelii*, штамм IS1, пересаживают на мышью, позволяют присоединиться и питаться до полного насыщения и отпадения. Статус питания контролируют ежедневно для каждого индивидуального клеща, и только мыши, из которых был собран по меньшей мере один полностью накормленный клещ, входят в конечную выборку.

Нагрузка иммунизированных мышей, выращенных in vitro Borrelia, с помощью иглы

Через 2 недели после последней иммунизации мышей нагружают п/к *Borrelia* в 100 мкл питательной среды для *Borrelia* (BSK II). Дозы нагрузки зависят от штамма, вирулентность отдельных штаммов оценивают в экспериментах с нагрузкой для определения ID₅₀. Дозы, используемые для экспериментов с нагрузкой с помощью иглы, варьируют от 20 x до 50 x ID₅₀.

Умерщвление мышей и сбор материала

Через 4 недели после нагрузки с помощью иглы указанным видом

Borrelia spp. или через 6 недель после нагрузки клещом. инфицированным *B. afzelii*, мышей умерщвляют сдвигом шейных позвонков. Кровь собирают орбитальной пункцией, образцы конечной сыворотки изготавливают и используют для анализа VlsE ТИФА, чтобы определить статус инфицирования. Дополнительно, одно ухо каждой мыши собирают, вытягивают ДНК и поддают ее анализу методом количественной ПЛР (кПЛР) для идентификации *Borrelia*. Конечный итог относительно инфицирования базируется на двух разных анализах VlsE ТИФА и кПЛР, направленная на *recA*).

ТИФА с невариабельным участком 6 (IR6) вариабельной ведущего белок-подобной Последовательности белка E (VlsE)

Для анализа используют биотинилированный пептид 25-mer (MKKDDQIAAAMVLRGMAKDGQFALK), полученный из последовательности *B. garinii*, штамм IP90 (Liang FT, Alvarez AL, Gu Y, Nowling JM, Ramamoorthy R, Philipp MT. An immunodominant conserved region within the variable domain of VlsE, the variable surface antigen of *Borrelia burgdorferi*. J Immunol. 1999;163:5566-73). Предварительно покрытые стрептавидином 96-луночные планшеты ТИФА (Nunc) укрывают 100 мкл/лунку биотинилированного пептида (1 мкг/мл) в фосфатном буферном растворе с добавлением 0,1% Твина 20 (ФБР/0,1Т). Планшеты инкубируют на протяжении ночи при 4°C. После накрытия пептидом, планшеты промывают один раз ФБР/0,1Т. Планшеты инкубируют на протяжении ночи при 4°C. После покрытия пептидом, планшеты промывают один раз ФБР/0,1Т. Далее планшеты блокируют на протяжении 1 часа при комнатной температуре (RT) 100 мкл/лунку ФБР+2% альбумина телячьей сыворотки, после чего опять промывают ФБР/0,1Т. Реактивность сывороток после нагрузки на пептид тестируют в разведениях 1:200, 1:400 и 1:800 в ФБР+1% альбумина телячьей сыворотки. Планшеты инкубируют на протяжении 90 минут при RT перед промыванием трижды ФБР/0,1Т. Далее в каждую лунку добавляют 50 мкл 1,3 мкг/мл поликлонального кроличьего анти-мышинного IgG, конъюгированного с пероксидазой хрена (ПХ) (Dako) в ФБР+1% альбумина телячьей сыворотки. Далее планшеты инкубируют на протяжении 1 часа при RT. После трех промываний ФБР/0,1Т, добавляют АБТС (50 мкл/лунку) как субстрат

(Sigma-Aldrich), и цвету позволяют проявиться на протяжении 30 минут. Оптическую густоту измеряют на длине волны 405 нм. Все образцы сыворотки тестируют в двойном повторении. Негативный контроль содержит ФБР вместо сыворотки, а также планшеты, не покрытые пептидом. Образцы сыворотки мышей с доказанной позитивной на инфекцию *B. afzelii* культурой используют как положительный контроль.

кПЛР, направленная на recA

Олигонуклеотидные праймеры сконструированы для гена *recA* таким способом, что они могут быть использованы в кПЛР для идентификации всех родственных видов *Borrelia*, которые вызывают боррелиоз Лайма (прямой: CATGCTCTTGATCCTGTTTA, обратный: CCCATTTCTCCATCTATCTC). Фрагмент *recA* клонируют из *B. burgdorferi* s.s., штамм N40, в pET28b(+) для использования как стандарта в каждой реакции. Хромосомную ДНК, экстрагированную из ушей мышей, разбавляют водой 1:8 для уменьшения эффектов матрикса, наблюдаемых для неразбавленной ДНК. Мастер-микс, состоящий из 10 мкл SSoAdvanced™ SYBR® Green Supermix, по 0,3 мкл каждого праймера (10 мкМ) и 7,4 мкл воды, готовят для каждого эксперимента. 18 мкл мастер-микса смешивают с 2 мкл разведенной ДНК, экстрагированной из мочевого пузыря или уха на планшетах для микротитрования, и ДНК амплифицируют с применением системы детектирования ПЛР в реальном времени CFX96 (Bio-Rad, США). ДНК денатурируют на протяжении 3 минут при 95°C, и дальше осуществляют 50 циклов длительностью 15 секунд при 95°C и 30 секунд при 55°C. После амплификации ДНК готовая для анализа кривой плавления путем денатурации на протяжении 30 секунд при 95°C, и дальше на протяжении 2 минут при 55°C. Анализ кривой плавления осуществляют путем инкубации на протяжении 5 секунд при 55°C, с повышением 0,5°C на цикл, и 5 секунд при 95°C. Для каждого планшета включают четыре средства неkopировального контроля (НKK), а также стандартную кривую в двойном повторении с количествами копий шаблона, которые варьируются от 10 до 10000.

Результаты

Липидированные гетеродимеры мутантного фрагмента OspA протестированные для определения защитной активности в 12 отдельных экспериментах. Мышей нагружали любым из *B. burgdorferi* s.s., штамм N40, OspA серотипа 1 (ST1, нагрузка с помощью иглы) или *B. afzelii*, штамм IS1, OspA серотипа 2 (ST2, нагрузка клещом) в трех экспериментах каждым, или *B. bavariensis*, штамм Scf, OspA серотипа 4 (ST4, нагрузка с помощью иглы), *B. garinii*, штамм «А», OspA серотипа 5 (ST5, нагрузка с помощью иглы) или *B. garinii*, штамм «В», OspA серотипа 6 (ST6, нагрузка с помощью иглы) в двух экспериментах каждый. Во всех экспериментах группа мышей, иммунизированных только адъювантом Al(OH)₃, служила группой отрицательного контроля. Для нагрузки клещом, 1-2 клеща пересаживали на мышь, и только мыши, из которых по меньшей мере один полностью накормленный клещ мог быть собран, вошли в конечную выборку. Однако не делали разницы между мышами, из которых был собран один или два полностью накормленных клеща. Данные относительно защиты для 12 экспериментов просуммированы в Таблице 4.

Гетеродимер меченого His, липидированного OspA (Lip-S1D1-S2D1-His) продемонстрировал высокой мерой статистически значимую защиту (точный двусторонний тест Фишера) во всех 6 экспериментах против нагрузки OspA серотипа 1 и OspA серотипа 2, по сравнению с группой отрицательного контроля. Неожиданно, иммунизация Lip-S4D1-S3D1-His и Lip-S5D1-S6D1-His также обеспечивала высокую защитную активность против нагрузки OspA серотипа 2 (Эксперименты 4-6), указывая на то, что может существовать перекрестно-защитное влияние иммунизации мутантными фрагментами OspA другого серотипу. Дополнительно, иммунизация Lip-S4D1-S3D1 обеспечивала статистически значимую защиту против нагрузки OspA *Borrelia* серотипа 4 с помощью иглы (Эксперименты 7 и 8). В конечном счете, иммунизация Lip-S5D1-S6D1-His обеспечивала защиту против нагрузки с помощью иглы OspA серотипа 5 (Эксперименты 9 и 10) и OspA серотипа 6 (Эксперименты 11 и 12). Инфекционный статус каждой мыши был определен с применением VlsE ТИФА в комбинации кПЛР *recA*. Мышь считалась инфицированной, если по меньшей мере один способ давал позитивный результат.

В заключение, иммунизация гетеродимерными полипептидами мутантных фрагментов OspA согласно изобретению обеспечивает защиту против *Borrelia* исследованных серотипов, а также может обеспечить перекрестную защиту в некоторых случаях.

Гетеродимер липидированного, меченого His OspA (Lip-S1D1-S2D1-His) продемонстрировал высокой мерой статистически значимую защиту (точный двусторонний тест Фишера) во всех 6 экспериментах против нагрузки OspA серотипа 1 и OspA серотипа 2, по сравнению с группой отрицательного контроля. Неожиданно, иммунизация Lip-S4D1-S3D1-His и Lip-S5D1-S6D1-His также обеспечивала высокую защитную активность против нагрузки OspA серотипа 2 (Эксперименты 4-6), указывая на то, что может существовать перекрестно-защитное влияние иммунизации мутантными фрагментами OspA другого серотипа. Дополнительно, иммунизация Lip-S4D1-S3D1 обеспечивала статистически значимую защиту против нагрузки OspA *Borrelia* серотипа 4 с помощью иглы (Эксперименты 7 и 8). В конечном счете, иммунизация Lip-S5D1-S6D1-His обеспечивала защиту против нагрузки с помощью иглы OspA серотипа 5 (Эксперименты 9 и 10) и OspA серотипа 6 (Эксперименты 11 и 12). Инфекционный статус каждой мыши был определен с применением VlsE ТИФА в комбинации кПЛР *recA*. Мышь считалась инфицированной, если по меньшей мере один способ давал позитивный результат.

В заключение, иммунизация гетеродимерными полипептидами мутантных фрагментов OspA согласно изобретению обеспечивает защиту против *Borrelia* исследованных серотипов, а также может обеспечить перекрестную защиту в некоторых случаях.

Пример 5. Оценка защитной активности комбинированной вакцины в соотношении 1:1:1 гетеродимеров мутантного OspA согласно изобретению против нагрузки *Borrelia* OspA серотипа 1 и серотипа 2 *in vivo* в Методах нагрузки с помощью иглы или нагрузки клещом

Экспериментальная часть

Иммунизация мышей

Мышей-самок СЗН/HeN (Janvier, Франция) используют для всех исследований. Перед каждой нагрузкой, в группах по 10 мышей возрастом 8 недель отбирают образцы крови через лицевую вену, готовят образцы сыворотки к иммунизации и объединяют в пул. Три

иммунизации путем подкожного (п/к) введения 100 мкл проводят с интервалом 2 недели. Группы мышей иммунизируют комбинированной вакциной, состоящей из 1 мкг каждого из Lip-S1D1-S2D1, Lip-S4D1-S3D1 и Lip-S5D1-S6D1. Три других антигена на основе OspA включают в эксперименты с нагрузкой: Lip-OspA1-His (полноразмерный OspA серотипа 1, липидированный и меченый his), липидированный химерный OspA ST1/ST2* и только Lip-S1D1-S2D1. Отрицательный контроль (плацебо) представляет собой только адъювант $Al(OH)_3$. Все антигены вводят в ФБР с алюминия гидроксидом ($Al(OH)_3$) в конечной концентрации 0,15%.

* (Химерный OspA ST1/ST2 (SEQ ID NO: 212) представляет собой химеру OspA, состоящую из первых 10 аминокислот N-концевой части OspB (штамм B31), аминокислот 11-200 OspA серотипа 1, слитых с последними аминокислотами 201-255 из C-концевой части OspA серотипа 2, причем hLFA-1-подобная последовательность серотипа 1 OspA (146-170) замененная гомологичной последовательностью из OspA серотипа 2. За последовательностью OspA серотипа 2 следуют две аминокислоты, введенные в силу того, что сайт клонирования (XhoI) расположен впереди стоп-кодона в векторе.)

Через неделю после третьей иммунизации отбирают образцы крови из лицевой вены и готовят образцы гипериммунной сыворотки. Все животные опыты осуществляются в соответствии с Австрийским законом (BGB1 Nr. 501/1989) и одобренные «Magistratsabteilung 58».

Нагрузка иммунизированных мышей выращенной in vitro Borrelia с помощью иглы

Через 2 недели после последней иммунизации мышей нагружают п/к спирохетами *Borrelia* у 100 мкл питательной среды для *Borrelia* (BSK II). Дозы нагрузки зависят от, штамма, вирулентность отдельных, штаммов оценивают в экспериментах с нагрузкой для определения ID_{50} . Дозы, используемые для экспериментов с нагрузкой с помощью иглы, варьируют от 20 х до 50 х ID_{50} . Через 4 недели после нагрузки с помощью иглы мышей умерщвляют, кровь и ткани собирают для методов считывания данных, чтобы определить статус инфицирования.

Нагрузка клещом иммунизированных мышей и сбора сыворотки и

тканей (в данном документе имеет название «Метод нагрузки клещом»)

Для нагрузки иммунизированных мышей *B. afzelii*, волосы на спине каждой мыши удаляют с помощью крема Veet® (Reckitt Benckiser, Великобритания) и слабо вентилируемый контейнер приклеивают к коже суперклеем (Pattex, Германия). Далее, одну или две куколки *I. ricinus*, инфицированные *B. afzelii*, штамм IS1, пересаживают за мышью, позволяют присоединиться и питаться до полного насыщения и отпадения. Статус питания контролируют ежедневно для каждого индивидуального клеща, и только мыши, из которых был собран по меньшей мере один полностью накормленный клещ, входят в конечную выборку.

Результаты

Липидированные гетеродимеры мутантного фрагмента OspA без метки His соединяли в соотношении 1:1:1 и проверяли защитную активность против нагрузки *Borrelia*. Иммунизированных мышей нагружали *B. afzelii* (ST2, штамм IS1, нагрузка клещом) или *B. burgdorferi* s.s. (ST1, штамм ZS7, нагрузка с помощью иглы), в двух экспериментах каждым. Другие антигены на основе OspA включали Lip-S1D1-S2D2 во всех четырех экспериментах и Lip-OspA1-His и липидированный химерный OspA ST1/ST2 в Экспериментах 15 и 16. В каждом эксперименте группа мышей, иммунизированных только адъювантом Al(OH)₃, служила группой отрицательного контроля. Для нагрузки клещом, 1–2 клеща пересаживали на мышью, и только мыши, из которых по меньшей мере один полностью накормленный клещ мог быть собран, вошли в конечную выборку. Однако не делали разницы между мышами, из которых был собран один или два полностью накормленных клеща. Данные относительно защиты для 4 экспериментов просуммированы в Таблице 5.

Комбинированная вакцина, содержащая три липидированных гетеродимера мутантных фрагментов OspA в соотношении 1:1:1, обеспечивает статистически значимую защиту (точный двусторонний тест Фишера) во всех четырех экспериментах с нагрузкой, в сравнении с отрицательной контрольной группой. Инфекционный статус каждой мыши был определен с применением VlsE ТИФА в комбинации кПЛР *recA*. Мышь считалась инфицированной, если по

меньшей мере один способ давал позитивный результат.

Пример 6 Связывание антител из сыворотки мышей, иммунизированных гетеродимерами мутантных фрагментов OspA, с поверхностью клеток *Borrelia*

Экспериментальная часть

Иммунизация мышей

Мышей-самок СЗН/HeN используют для всех исследований. Перед каждой нагрузкой, в группах по 20 мышей возрастом 8 недель отбирают образцы крови через лицевую вену, готовят образцы сыворотки к иммунизации и объединяют в пул. Три иммунизации путем подкожного (п/ш) введения 100 мкл проводят с интервалом 2 недели. Каждая доза содержит 1 мкг каждого из соответствующих белков: Lip-S1D1-S2D1, Lip-S4D1-S3D1 и Lip-S5D1-S6D1 (комбинированная вакцина), или 1 мкг липидированного полноразмерного белка OspA (ST1-ST6, как указано) или 1 мкг только гетеродимера OspA (Lip-S1D1-S2D1, Lip-S4D1-S3D1 или Lip-S5D1-S6D1, как указано) с алюминия гидроксидом в качестве адъюванта в конечной концентрации 0,15%. Отрицательным контролем (плацебо) является только адъювант Al(OH)₃. Через неделю после третьей иммунизации отбирают образцы крови из лицевой вены и готовят образцы гипериммунной сыворотки. Все животные опыты осуществляются в соответствии с Австрийским законом (BGB1 Nr. 501/1989) и одобрены «Magistratsabteilung 58».

*Проточная цитометрия для оценки связывания с *Borrelia**

Спирохеты (1×10^6) смешивают с равным объемом 4% параформальдегида и инкубируют на протяжении 2 часов при комнатной температуре в 96-луночном планшете (Nuncclon 96U, Nunc). Планшет центрифугируют на протяжении 5 минут при 2000 g, и супернатант отбрасывают. Клетки промывают 150 мкл сбалансированного солевого раствора Хенкса (ЗСРХ) с содержанием 2% альбумина телячьей сыворотки (ЗСРХ-Т), центрифугируют, как описано выше, и супернатант отбрасывают. Образцы сыворотки мыши инактивируют нагреванием, инкубируя их при 56°C на протяжении 35 минут. Инактивированные нагреванием образцы сыворотки разбавляют в ЗСРХ-Т и обрабатывают стерилизующей фильтрацией, центрифугируя

при 4000 g на протяжении 3 минут с использованием фильтров для центрифужных пробирок Costar spin-X (0,22 мкм, Corning, США). Спирохеты помещают в 100 мкл сыворотки и инкубируют на протяжении 45 минут при комнатной температуре. Планшет центрифугируют на протяжении 15 минут при 2000 g, и супернатант отбрасывают. Клетки промывают один раз 150 мкл ЗСРХ-Т, после чего помещают в 100 мкл ЗСРХ-Т. 1 мкл вторичного антитела (конъюгированный с ПЕ козий анти-мышинный IgG, Beckman Coulter, США) добавляют к клеткам и инкубируют при комнатной температуре на протяжении 45 минут в темноте. Спирохеты промывают один раз 150 мкл ЗСРХ-Т, и дальше растворяют в 200 мкл ЗСРХ, содержащем 2,5 мкМ красителя для ДНК SYTO 17, и инкубируют на протяжении 10 минут при комнатной температуре в темноте. Окрашенные спирохеты гранулируют центрифугированием на протяжении 5 минут при 2000 g, и дальше разбавляют 200 мкл ЗСРХ. Меченые спирохеты анализируют с помощью проточного цитометра FC500 (Beckman Coulter), отрегулированным для пропускания позитивных импульсов SYTO 17. Значения, полученные для образцов сыворотки иммунизированной плацебо группы, отнимают от значений, наблюдаемых для образцов сыворотки иммунизированных гетеродимерами групп, с целью контроля неспецифического связывания.

Результаты

Связывание антител из образцов гипериммунной сыворотки мыши наблюдалось в случае разных *Borrelia*, экспрессирующих все шесть серотипов OspA, указывая на то, что антитела, которые генерируются в ответ на все антигены, являются функционально активными и могут связываться с нативным OspA *in situ*. Интенсивность флуоресценции была линейной для большого интервала разведений сыворотки. Для большинства серотипов OspA, наблюдаемая интенсивность флуоресценции для полученных с применением гетеродимеров образцов сыворотки, была сопоставимой с интенсивностью флуоресценции, которая наблюдалась для образцов сыворотки, полученных с применением липидированного полноразмерного OspA.

Пример 7 Исследование препарата

Исследования препарата комбинированной вакцины согласно

изобретению были осуществлены для оптимизации стабильности. Разные типы буферов и стабилизаторов были проверены в разных концентрациях в комбинации с алюминия гидроксидом и антигеном. Как оптимальный был определен препарат с содержанием 40 мкг/мл каждого из трех гетеродимеров (120 мкг полноразмерного белка), 10 мМ натрия фосфата, 150 мМ натрия хлорида, 10 мМ L-метионина, 5% сахарозы, 0,05% Твина 20 (полисорбат 20) и 0,15% (масс/об) алюминия гидроксида при pH 6,7±0,2.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO: 1

S2D0-His: аминокислоты в положениях 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2, последовательность дикого типа, С-концевая метка His (GLENNHHHHH)
ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTSLKEIAKS
GEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGT
AVEIKTLDELKNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 2

S2D1-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 (ак 182 и 269), С-концевая метка His (GLENNHHHHH)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELCNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 3

S2D2-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 2 (ак 182 и 272), С-концевая метка His (GLENNHHHHH)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNACKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 4

S2D3-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 3 (ак 244 и 259), С-концевая метка His (GLENNHHHHH)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTSLKE

IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTICVQKYDSAGTN
LEGTCVEIKTLDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 5

S2D4-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA
серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4 (ак 141 и 241), С-
концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTTRECGKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQCTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 6

S2D5-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA
серотипа 2 с дисульфидной связью типа 5 (ак 165 и 265), С-
концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNCTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTCDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 7

S2D6-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA
серотипа 2 с дисульфидной связью типа 6 (ак 185 и 272), С-
концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTCTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNACKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 8

S2D7-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA
серотипа 2 с дисульфидной связью типа 7 (ак 199 и 223), С-
концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTCALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTCTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 9

S2D8-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA
серотипа 2 с дисульфидной связью типа 8 (ак 243 и 262), С-
концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTCTVQKYDSAGTN

LEGTAVECKTLDDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 10

S2D9-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 9 (ак 184 и 204), С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGCVTLSKE
IAKSGEVTVALNDCNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 11

S2D10-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 10 (ак 201 и 214), С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVACNDTNTTQATKKTCAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 12

S2D11-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 11 (ак 246 и 259), С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVCKYDSAGTN
LEGTCVEIKTLDDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 13

S2D12-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 12 (ак 167 и 178), С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTCEGKVANDKVTCEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 14

Borrelia OspA сигнал липидации

MKKYLLGIGLILALIA

SEQ ID NO: 15

Borrelia OspB сигнал липидации

MRLIGFALALALIG

SEQ ID NO: 16

E. coli сигнал липидации lpp

MKATKLVLGAVILGSTLLAG

SEQ ID NO: 17

hLFA-1-подобная последовательность из *B. burgdorferi* s.s.,
штамм B31

GYVLEGLTAE

SEQ ID NO: 18

Non-hLFA-1- подобная последовательность из *B. afzelii*, штамм
K78

NFTLEGKVAND

SEQ ID NO: 19

B. afzelii (штамм K78; OspA серотипа 2)

MKKYLLGIGLILALIACKQNVSSLDEKNSASVDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSLKATVDK
IELKGTSDKDNGSGVLEGTKDDKSKAKLTIADDLSKTTFELFKEDGKTLVSRKVSSKDKTSTDE
MFNEKGELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLLEVKEGTVTLS
KEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTLVFTKQDTITVQKYDSAG
TNLEGTAVEIKTLDELKNALKID

SEQ ID NO: 20

B. burgdorferi s.s. (штамм B31, OspA серотипа 1)

MKKYLLGIGLILALIACKQNVSSLDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDK
LELKGTSDKNNGSGVLEGVKADKSKVKLTISDDLQTTLEVFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEE
KFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKGYVLEGLTAEKTTLVVKEGTVTLS
KNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQQYDSNG
TKLEGSAVEITKLDEIKNALK

SEQ ID NO: 21

B. garinii (штамм PBr, OspA серотипа 3)

MKKYLLGIGLILALIACKQNVSSLDEKNSVSDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSLMATVEK
LELKGTSDKSNNGSGVLEGEKADKSKAKLTISQDLNQTTFEIFKEDGKTLVSRKVNSKDKSSTEE
KFNDKGGKLSEKVVTRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALLEGTLTDGGETKLTVTEGTVTL
SKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSSTLTISKNSQKPKQLVFTKENTITVQYNRA
GNALEGSPAIEIKDLAELKAALK

SEQ ID NO: 22

B. bavariensis (штамм PBi, OspA серотипа 4)

MKKYLLGIGLILALIACKQNVSSLDEKNSVSDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSLMATVDK
LELKGTSDKSNNGSGTLEGEKSDKSKAKLTISEDLSKTTFEIFKEDGKTLVSKKVNSKDKSSIEE
KFNAKGELSEKTILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLKVTEGTVVLS

KHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAG
TNLEGNAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 23

B. garinii (штамм PHei, OspA серотипа 5)

MKKYLLGIGLILALIACKQNVSSLDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSLEATVEK
LELKGTSKNNNGSGTLEGEKTDKSKVKLTIAEDLSKTTFEIFKEDGKTLVSKKVTLKDKSSTEE
KFNEKGEISEKTIVRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTEGTVTL
SKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAG
TNLEGKAVEITTLKELKNALK

SEQ ID NO: 24

B. garinii (штамм DK29, OspA серотипа 6)

MKKYLLGIGLILALIACKQNVSSLDEKNSVSVDLPGGMTVLVSKEKDKDGKYSLEATVVK
LELKGTSKNNNGSGTLEGEKTDKSKVKSTIADDLSQTKFEIFKEDGKTLVSKKVTLKDKSSTEE
KFNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTEGTVVL
SKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSA
GTNLEGKAVEITTLKELKNALK

SEQ ID NO: 25

B. garinii (штамм T25, OspA серотипа 7)

MKKYLLGIGLILALIACKQNVSSLDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSLEATVVK
LELKGTSKNNNGSGVLEGVKAAKSKAKLTIADDLSQTKFEIFKEDGKTLVSKKVTLKDKSSTEE
KFNDKGKLSEKVVTRANGTRLEYTEIQNDGSGKAKEVLKSLTLEGTLTADGETKLTVEAGTVTL
SKNISESGEITVELKDTETTPADKKSGTWDSKTSTLTISKNSQKTKQLVFTKENTITVQKYNTA
GTKLEGSPAIEIKDLEALKAALK

SEQ ID NO: 26

Прямой праймер

GTATGTTTAGTGAGGGGGGTG

SEQ ID NO: 27

Обратный праймер

GGATCATAGCTCAGGTGGTTAG

SEQ ID NO: 28

Прямой «вложенный» праймер

AGGGGGGTGAAGTCGTAACAAG

SEQ ID NO: 29

Обратный «вложенный» праймер

GTCTGATAAACCTGAGGTCGGA

SEQ ID NO: 30

25-mer пептид

MKKDDQIAAAMVLRGMAKDGGQFALK

SEQ ID NO: 31

Мышинный кателин

RLAGLLRKGGEKIGEKLLKIGQKIKNFFQKLVPQPE

SEQ ID NO: 32

5'-(dIdC)₁₃-3'

dIdC dIdC dIdC dIdC dIdC dIdC dIdC dIdC dIdC dIdC dIdC dIdC
dIdC

SEQ ID NO: 33

KLK пептид

KLKLLLLLLKLK

SEQ ID NO: 34

B. afzelii (штамм K78, серотип 2), OspA ак 126-273

FNEKGELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTV
TLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYD
SAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 35

B. afzelii (штамм K78, серотип 2), OspA ак 131-273

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 36

пептидный линкер

GGGGGGGG

SEQ ID NO: 37

пептидный линкер

GGGGGGGGGGGG

SEQ ID NO: 38

пептидный линкер

GAGA

SEQ ID NO: 39

пептидный линкер

GAGAGAGA

SEQ ID NO: 40

пептидный линкер

GAGAGAGAGAGA

SEQ ID NO: 41

пептидный линкер

GGGSGGGS

SEQ ID NO: 42

пептидный линкер

GGGSGGGS

SEQ ID NO: 43

S1D4-S2D4_aa: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 1 и 2, оба с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

FNEKGVEVSEKIIITRACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKEGTV
 TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKECTITVQQYD
 SNGTKLEGS AVEITKLDEIKNALKGTS DKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELS AKTMTRECGTK
 LEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQ
 ATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQCTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNAL
 K

SEQ ID NO: 44

Lip-S1D4-S2D4_nt: Кодированная последовательность для слитых белков OspA серотипов 1 и 2, оба с дисульфидной связью типа 4, E. coli сигнал липидации lpp, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной последовательностью NFTLEGKVAND

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAGTCTCGGAAAAAATCATTACCCGTGCTTGCGGCACCC
 GTCTGGAATACACCGGCATTAAATCGGATGGCAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAACTT
 TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAGACCACCCTGGTGGTGAAAGAAGGCACCGTTACG
 CTGAGCAAAAACATTAGTAAGTCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTG
 CGGCCACCAAAAAGACGGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATTC
 CAAAAAGACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGC
 AACGGTACCAAAGTGAAGGCTCTGCGGTGGAAATCACGAAAGTGGATGAAATCAAAAATGCTC
 TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGAAAAAGGCGAAGTGTGCGCGAAAACGATGACGCGTGAATGCGGCACCAAACTG
 GAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
 TGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAAGAAGGCACCGTTACGCTGTC

AAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGCAAGCG
 ACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAACAGCAAGA
 AAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAAACAATGTACGATCACCGTGCAGAAATACGATAGTGCGGG
 TACCAACCTGGAAGGCACCGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCCTGAAA

SEQ ID NO: 45

Lip-S1D4-S2D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 1 и 2, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, N-концевая липидация, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipCSSFNEKGEVSEKIITRACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLV
 VKEGTVTLNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTKECTI
 TVQQYDSNGTKLEGSVEITKLDEIKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMT
 RECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLNKEIAKSGEVTVALN
 DTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQCTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD
 ELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 46

Lip-S1D4-S2D4_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 1 и 2, оба с дисульфидной связью типа 4, E. coli сигнал липидации lpp, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAGTCTCGGAAAAAATCATTACCCGTGCTTGCGGCACCC
 GTCTGGAATACACCGGCATTAAATCGGATGGCAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAACTT
 TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAGACCACCCTGGTGGTGAAAGAAGGCACCGTTACG
 CTGAGCAAAAACATTAGTAAGTCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTG
 CGGCCACCAAAAAGACGGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATTC
 CAAAAAGACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGC
 AACGGTACCAAAGTGAAGGCTCTGCGGTGGAAATCACGAAAGTGGATGAAATCAAAAATGCTC
 TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGAAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAATGCGGCACCAAACTG
 GAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
 TGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAAGAAGGCACCGTTACGCTGTC

AAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGCAAGCG
 ACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAACAGCAAGA
 AAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAAACAATGTACGATCACCGTGCAGAAATACGATAGTGCGGG
 TACCAACCTGGAAGGCACCGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCCTGAAA
 GGCCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 47

S1D1-S2D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 1 и
 OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, линкерная
 последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные
 не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

FNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTV
 TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYD
 SNGTKLEGS AVEITKLDEICNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELS AKTMTRENGTK
 LEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQ
 ATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDEL CNAL
 K

SEQ ID NO: 48

Lip-S1D1-S2D1_nt: Кодированная последовательность для
 промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA
 серотипа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, E.
coli сигнал липидации lpp, линкерная последовательность LN1, ак
 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной
 последовательностью NFTLEGKVAND

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAGTCAGCGAAAAAATCATTACCCGCGCAGACGGCACCC
 GCCTGGAATACACCGGCATCAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAAACTT
 TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAAACCACCCTGGTGGTGAAATGCGGCACCGTTACG
 CTGAGCAAAAACATTAGTAAATCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTG
 CGGCCACCAAGAAAACCGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATAG
 CAAGAAAACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAAAACACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGC
 AATGGTACCAAACCTGGAAGGCTCCGCTGTGGAAATCACGAAACTGGATGAAATCTGTAATGCTC
 TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGAAAAGGGCGAACTGTGCGCGAAAACGATGACGCGTGAAAACGGCACCAAACCTG
 GAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAAACTTTACCC
 TGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAATGCGGCACCGTTACGCTGTC
 AAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGCAAGCG

ACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAATAGCAAGA
AAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAACAAGATACGATCACCGTGCAGAAATACGACAGTGCGGG
TACCAACCTGGAAGGCACGGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGTGTAACGCCCTGAAA

SEQ ID NO: 49

Lip-S1D1-S2D1_His_ак: Гетеродимерный слитный белок OspA серотипа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, N-концевая липидация, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLV
VKCGTVTLNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTIT
TVQQYDSNGTKLEGSVEITKLDEICNALKGTSKNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMT
RENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLNKEIAKSGEVTVALN
DTNTTQATKKTGAWDSTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD
ELCNALKGLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 50

Lip-S1D1-S2D1_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, E. coli сигнал липидации lpp, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной последовательностью NFTLEGKVAND, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAGTCAGCGAAAAAATCATTACCCGCGCAGACGGCACCC
GCCTGGAATACACCGGCATCAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAAACCACCCTGGTGGTGAAATGCGGCACCGTTACG
CTGAGCAAAAACATTAGTAAATCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTG
CGGCCACCAAGAAAACCGCAGCTTGGAAGTCAAGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATAG
CAAGAAAACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAAAACACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGC
AATGGTACCAAAGTGAAGGCTCCGCTGTGGAATCACGAAAGTGGATGAAATCTGTAATGCTC
TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGAAAAGGGCGAAGTGTGCGCGAAAACGATGACGCGTGAAAACGGCACCAAAGT
GAATATACGGAAGTGAAGAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAATGCGGCACCGTTACGCTGTC
AAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGCAAGCG

ACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAATAGCAAGA
 AAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAACAAGATACGATCACCGTGCAGAAATACGACAGTGCGGG
 TACCAACCTGGAAGGCACGGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGTGTAACGCCCTGAAA
 GGCCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 51

S3D4-S4D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 3 и
 OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4, линкерная
 последовательность LN1

FNEKGKLSEKVVTRACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTTEGT
 VTLSKNISKSGETITVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKECTITVQNY
 NRAGNALEGSPAIEIKDLAELKAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTILRACGT
 RLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLVTEGTVVLSKHIPNSGETITVELNDSNST
 QATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELKNA
 LK

SEQ ID NO: 52

Lip-S3D4-S4D4_nt: Кодирующая последовательность для
 промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA
 серотипа 3 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4, E.
coli сигнал липидации lpp, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCAAACTGTCAGAAAAAGTGGTCACCCGCGCTTGTGGCACCC
 GCCTGGAATACACCGAAATCAAAAACGACGGCTCGGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTT
 TGCCCTGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGGAAGGCACCGTT
 ACGCTGTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCA
 CGCCGGCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAA
 CTCGCAGAAACCGAAGCAACTGGTCTTCACCAAAGAATGCACGATCACCGTGCAGAACTATAAT
 CGTGCCGGTAATGCTCTGGAAGGCTCCCCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCGGAACTGAAGGCGG
 CACTGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
 GTACTCATTCAACGCTAAAGGTGAACTGTGCGAAAAAACCATCCTGCGCGCCTGTGGCACCCGC
 CTGGAATACACGGAATCAAGTCGGACGGCACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTG
 CTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTTCT
 GAGCAAACATATTCCGAACTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGCAG
 GCGACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTCACTCAACTCGA
 AAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAATGCACGATCACCGTTCAAAAATATGATTCCGC
 AGGTACCAACCTGGAAGGCAACGCTGTGGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAATGCTCTG
 AAG

SEQ ID NO: 53

Lip-S3D4-S4D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 3 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, N-концевая липидация, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipcSSFNEKGKLESEKVVTRACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKL
TVTEGTVTLNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSSTLTISKNSQKPKQLVFTKECT
ITVQNYNRAGNALEGSPAELKDLAELKAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTI
LRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLVTEGTVVLSKHIPNSGEITVEL
NDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTL
DELKNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 54

Lip-S3D4-S4D4_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 3 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4, E. coli сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCAAACCTGTCAGAAAAAGTGGTCACCCGCGCTTGTGGCACCC
GCCTGGAATACACCGAAATCAAAAACGACGGCTCGGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTT
TGCCCTGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGGAAGGCACCGTT
ACGCTGTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCA
CGCCGGCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAA
CTCGCAGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAATGCACGATCACCGTGACGAACTATAAT
CGTGCCGGTAATGCTCTGGAAGGCTCCCCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCGGAACTGAAGGCGG
CACTGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
GTACTCATTTCAACGCTAAAGGTGAACTGTGCGAAAAAACCATCCTGCGCGCCTGTGGCACCCGC
CTGGAATACACGGAATCAAGTCGGACGGCACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTG
CTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACCGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTTCT
GAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGCAG
GCGACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTCGA
AAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAATGCACGATCACCGTTCAAAAATATGATTCCGC
AGGTACCAACCTGGAAGGCAACGCTGTGGAATCAAAACCTGGACGAACTGAAAAATGCTCTG
AAGGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 55

S3D1-S4D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 3 и 4, оба с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNEKGKLSEKVVTRANGLRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALDGLDGGETKLTVTCTGT
VTLSKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENTITVQNY
NRAGNALEGSPAIEIKDLAELCAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKITLRANGT
RLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALDGLTAAADKTTLKVTCGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNST
QATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELCA
LK

SEQ ID NO: 56

Lip-S3D1-S4D1_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипов 3 и 4, оба с дисульфидной связью типа 1, E. coli сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCAAACCTGTCTCGAAAAAGTGGTCACCCGCGCAAATGGCACCC
GCCTGGAATACACGGAATCAAAAACGATGGTAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTT
TGCCCTGGAAGGTACCTTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGTGCGGCACCGTT
ACGCTGTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCA
CGCCGGCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAA
CTCGCAGAAACCGAAGCAACTGGTCTTCACCAAAGAAAACACGATCACCGTGCAAGAACTATAAT
CGTGCCGGTAATGCTCTGGAAGGCTCACCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCTGAAGTGTGTGCGG
CACTGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
GTACTCATTCACGCTAAAGGTGAACTGAGCGAAAAACGATCCTGCGTGCGAATGGCACCCGT
CTGGAATACACCGAAATCAAATCCGATGGTACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTG
CTCTGGAAGGTACCTTGCGGCGGACAAAACACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGGTTCT
GAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGCAG
GCAACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCACTCAACTCGA
AAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAAGATACGATCACCGTTCAAAAATATGACTCCGC
GGGCACCAACCTGGAAGGCAATGCCGTCGAAATCAAAACCTGGATGAAGTGTGTAATGCTCTG
AAG

SEQ ID NO: 57

Lip-S3D1-S4D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 3 и 4, оба с дисульфидной связью типа 1, E. coli сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, N-

концевая липидация, линкерная последовательность LN1, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGKLESEKVVTRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALLEGTLTDGGETKL
TVTCGTVTLTKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSSTLTISKNSQKPKQLVFTKENT
ITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDLAELCAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTI
LRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALLEGTLAADKTTLKVTCGTVVLSKHIPNSGEITVEL
NDSNSTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTL
DELCNALKGLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 58

Lip-S3D1-S4D1_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 3 и 4, оба с дисульфидной связью типа 1, E. coli сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCAAACTGTCGAAAAAGTGGTCACCCGCGCAAATGGCACCC
GCCTGGAATACACGGAAATCAAAAACGATGGTAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTT
TGCCCTGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGTGCGGCACCGTT
ACGCTGTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCA
CGCCGGCTGACAAAAAGACCGGCGAATGAAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAA
CTCGCAGAAACCGAAGCAACTGGTCTTCACCAAAGAAAACACGATCACCGTGCAGAACTATAAT
CGTGCCGGTAATGCTCTGGAAGGCTCACCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCTGAACTGTGTGCGG
CACTGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAA
GTACTCATTCAACGCTAAAGGTGAACTGAGCGAAAAAACGATCCTGCGTGCGAATGGCACCCGT
CTGGAATACACCGAAATCAAATCCGATGGTACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTG
CTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACCACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGGTTCT
GAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGCAG
GCAACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTCGA
AAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAAGATACGATCACCGTTCAAAAATATGACTCCGC
GGGCACCAACCTGGAAGGCAATGCCGTGAAATCAAAACCCTGGATGAACTGTGTAATGCTCTG
AAGGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 59

S5D4-S6D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 5 и 6, оба с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1

FNEKGEISEKTIVRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLVTEGT

VTLSKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNR TKTKQLVFTKECTITVQNYD
 SAGTNLE GKAVEITTLKELKNALKGTS DKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIVRACGTR
 LEYTDIKSDGSGKAKEVLKDF TLEGT LAADGKTTLKVTEGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTT
 RATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECTITVQRYDSAGTNLE GKAVEITTLKELKNA
 LK

SEQ ID NO: 60

Lip-S5D4-S6D4_nt: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипов 5 и 6, оба с дисульфидной связью типа 4, E. coli сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAATCAGTGAAAAAACCATTTGTGCGTGCGTGTGGCACCC
 GTCTGGAATATACCGACATCAAGAGCGATAAAACGGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTT
 TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACCGAAGGTACCGTT
 ACGCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCT
 CTGGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGACTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCG
 TACGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAACTATGATAGC
 GCAGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTC
 TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGTGAAAAAACGATTGTTTCGCGCCTGTGGCACCCGCTG
 GAATACACGGATATCAAGTCGGATGGTTCGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTACGC
 TGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTTCT
 GTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCACGCGT
 GCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGACAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAACTCCC
 AGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAGAATGCACGATCACCGTTCAACGCTATGATAGTGC
 GGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTCTG
 AAA

SEQ ID NO: 61

Lip-S5D4-S6D4_His_aa: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 5 и 6, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, N-концевая липидация, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGEISEKTIVRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDF TLEGT LAADGKTTL
 KVTEGTVTLSKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNR TKTKQLVFTKECTI
 TVQNYDSAGTNLE GKAVEITTLKELKNALKGTS DKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIV

RACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTEGTVVLSKNILKSGEITAAL
 DDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL
 KELKNALKGLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 62

Lip-S5D4-S6D4_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 5 и 6, оба с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAATCAGTGAAAAAACCATTTGTGCGTGCGTGTGGCACCC
 GTCTGGAATATACCGACATCAAGAGCGATAAACGGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTT
 TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACCGAAGGTACCGTT
 ACGCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCT
 CTGGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGACTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCG
 TACGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTACGAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAAACTATGATAGC
 GCAGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTC
 TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGTGAAAAACGATTGTTTCGCGCCTGTGGCACCCGCCTG
 GAATACACGGATATCAAGTCGGATGGTTCGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTACGC
 TGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTTCT
 GTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCACGCGT
 GCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGACAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAACTCCC
 AGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAAGAATGCACGATCACCGTTCAACGCTATGATAGTGC
 GGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTCTG
 AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 63

S5D1-S6D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 6, оба с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNEKGEISEKTIVRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTCGT
 VTLSKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTITVQNYD
 SAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIVRANGTR
 LEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTCGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTT
 RATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNA
 LK

SEQ ID NO: 64

Lip-S5D1-S6D1_nt: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 6, оба с дисульфидной связью типа 1, E. coli сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAATCTCAGAAAAAACCATCGTCCGCGCTAACGGCACCC
GCCTGGAATACACCGACATCAAATCAGACAAGACCGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACCTGCGGTACCGTT
ACGCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCT
CTGGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGATTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCG
TACGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAAGATACGATCACCGTGCAAACTATGACAGC
GCAGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTC
TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGCGAAAAGACCATCGTGCGTGCGAACGGTACCCGCCTG
GAATATACGGACATTAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTACGC
TGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGGTTCT
GTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCACGCGT
GCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGATAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAACTCCC
AGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAAGAAGATACGATCACCGTTCAACGCTATGACAGTGC
GGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTCTG
AAA

SEQ ID NO: 65

Lip-S5D1-S6D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 6, оба с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, N-концевая липидация, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGEISEKTIVRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTL
KVTCGTVTLNLSKISKSGETVALDDTDSSGNKKSGETWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTI
TVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIV
RANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTLKVTCGTVVLSKNILKSGETAAL
DDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELCNALKGLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 66

Lip-S5D1-S6D1_His_nt: Кодирующая последовательность для

гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 6, оба с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, С-концевая метка His (GLEHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAATCTCAGAAAAAACCATCGTCCGCGCTAACGGCACCC
GCCTGGAATACACCGACATCAAATCAGACAAGACCGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACCTGCGGTACCGTT
ACGCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCT
CTGGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGATTACAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCG
TACGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAAGATACGATCACCGTGCAAAACTATGACAGC
GCAGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTC
TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGCGAAAAGACCATCGTGCGTGCGAACGGTACCCGCCTG
GAATATACGGACATTAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTACGC
TGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGGTTCT
GTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCACGCGT
GCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGATAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAACTCCC
AGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAAGAAGATACGATCACCGTTCAACGCTATGACAGTGC
GGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTCTG
AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 67

S2D4-S1D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

FNEKGELSAKMTRECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGT
VTLSEKIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQCTITVQKYD
SAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIITRACGTR
LEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKEGTVTLKSNISKSGEVSVELNDTDSSA
ATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTLDLVFTKECTITVQQYDSNGTKLEGSVEITKLDEIKNAL
K

SEQ ID NO: 68

Lip-S2D4-S1D4_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 4, *E. coli*

сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAATGCGGCACCA
AACTGGAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAAGAAGGCACCGTTACG
CTGTCAAAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGC
AAGCGACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAACAG
CAAGAAAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAACAATGTACGATCACCGTGCAGAAATACGATAGT
GCGGGTACCAACCTGGAAGGCACCGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCC
TGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGAAAAAGGCGAAGTCTCGGAAAAAATCATTACCCGTGCTTGCGGCACCCGTCTG
GAATACACCGGCATTAAATCGGATGGCAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAGACCACCCTGGTGGTGAAAGAAGGCACCGTTACGCTGAG
CAAAAACATTAGTAAGTCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTGCGGCC
ACCAAAAAGACGGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATTCCAAAA
AGACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGCAACGG
TACCAAACTGGAAGGCTCTGCGGTGGAAATCACGAAACTGGATGAAATCAAAAATGCACTGAAA

SEQ ID NO: 69

Lip-S2D4-S1D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, N-концевая липидация, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGELSAKTMTRCGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLE
VKEGTVTLTSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQCTI
TVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIT
RACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKEGTVTLTSKNISKSGEVSVELN
DTDSSAATKKTAAWNSTSTLTITVNSKKTDLVFTKECTITVQQYDSNGTKLEGSAREITKLD
EIKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 70

Lip-S2D4-S1D4_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 4, E. coli сигнал липидации lpp, N-

концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLENNHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAAACGATGACGCGTGAATGCGGCACCA
AACTGGAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCCGTTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAAGAAGGCACCGTTACG
CTGTCAAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGC
AAGCGACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAACAG
CAAGAAAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAACAATGTACGATCACCGTGCAGAAATACGATAGT
GCGGGTACCAACCTGGAAGGCACCGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCC
TGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGAAAAAGGCGAAGTCTCGGAAAAAATCATTACCCGTGCTTGCGGCACCCGTCTG
GAATACACCGGCATTAAATCGGATGGCAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAGACCACCCTGGTGGTGAAAGAAGGCACCGTTACGCTGAG
CAAAAACATTAGTAAGTCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTGCGGCC
ACCAAAAAGACGGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATTCCAAAA
AGACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGCAACGG
TACCAAACTGGAAGGCTCTGCGGTGGAAATCACGAAACTGGATGAAATCAAAAATGCACTGAAA
GGTCTCGAGCACCAACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 71

S2D1-S1D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

FNEKGELSAKTMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTV
TLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTITVQKYD
SAGTNLEGTAVEIKTLDELICNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIITRADGTR
LEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTVTLSKNISKSGEVSVELNDTDSSA
ATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSVEITKLDEICNAL
K

SEQ ID NO: 72

Lip-S2D1-S1D1_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA

серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N- концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAAACGATGACGCGTGAAAAACGGCACCA
AACTGGAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAATGCGGCACCGTTACG
CTGTCAAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGC
AAGCGACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAATAG
CAAGAAAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAACAAGATACGATCACCGTGCAGAAATACGACAGT
GCGGGTACCAACCTGGAAGGCACGGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGTGTAACGCCC
TGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGAAAAAGGCGAAGTCAGCGAAAAAATCATTACCCGCGCAGACGGCACCCGCCTG
GAATACACCGGCATCAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAAACCACCCTGGTGGTGAAATGCGGCACCGTTACGCTGAG
CAAAAACATTAGTAAATCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTGCGGCC
ACCAAGAAAACCGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATAGCAAGA
AAACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAAAACACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGCAATGG
TACCAAAGTGAAGGCTCCGCTGTGGAAATCACGAAAGTGGATGAAATCTGTAATGCACTGAAA

SEQ ID NO: 73

Lip-S2D1-S1D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 1, N- концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGELSAKTMRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLE
VKCGTVTLKSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTI
TVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDLDELNALKGTSDKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIT
RADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTVTLKSNISKSGEVSVELN
DTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSVEITKLD
EICNALKGLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 74

Lip-S2D1-S1D1_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 2 и 1, оба с

дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLENNHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAAAACGGCACCA
AACTGGAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAATGCGGCACCGTTACG
CTGTCAAAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGC
AAGCGACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAATAG
CAAGAAAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAACAAGATACGATCACCGTGCAGAAATACGACAGT
GCGGGTACCAACCTGGAAGGCACGGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGTGTAACGCCC
TGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTTCAACGAAAAAGGCGAAGTCAGCGAAAAAATCATTACCCGCGCAGACGGCACCCGCCTG
GAATACACCGGCATCAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAAACCACCCTGGTGGTGAATGCGGCACCGTTACGCTGAG
CAAAAACATTAGTAAATCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTGCGGCC
ACCAAGAAAACCGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATAGCAAGA
AAACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAAAACACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGCAATGG
TACCAAAGTGAAGGCTCCGCTGTGGAAATCACGAAAGTGGATGAAATCTGTAATGCACTGAAA
GGTCTCGAGCACCAACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 75

S4D4-S3D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

FNAKGELSEKTILRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLKVTEGTV
VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTITVQKYD
SAGTNLEGNAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVTRACGTR
LEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTEGTVTLNLSKNSKGEITVALNDTETT
PADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKECTITVQNYNRAGNALEGSPAELDLAELKAA
LK

SEQ ID NO: 76

Lip-S4D4-S3D4_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 4, *E. coli*

сигнал липидации lpp, N- концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGCTAAAGGTGAACTGTCGGAAAAAACCATCCTGCGCGCCTGTGGCACCC
GCCTGGAATACACGGAAATCAAGTCGGACGGCACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TGCTCTGGAAGGTACCTTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTT
CTGAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGC
AGGCGACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTC
GAAAAAGACCAAAAATATTGTGTTTACGAAGGAATGCACGATCACCGTTCAAAAATATGATTCC
GCAGGTACCAACCTGGAAGGCAACGCTGTGGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCC
TGAAGGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTTAACGATAAGGGCAAACCTGTCAGAAAAAGTGGTCACCCGCGCTTGTGGCACCCGCCTG
GAATACACCGAAATCAAAAACGACGGCTCGGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTTTGCCC
TGGAAGGTACCTTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGGAAGGCACCGTTACGCT
GTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCACGCCG
GCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAACTCGC
AGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAATGCACGATCACCGTGAGAACTATAATCGTGC
CGGTAATGCTCTGGAAGGCTCCCCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCGGAACTGAAGGCGGCACTG
AAA

SEQ ID NO: 77

Lip-S4D4-S3D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 4, N- концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, С-концевая метка His (GLENHHHHH)

LipcSSFNAKGELSEKTILRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLK
VTEGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKTKNIVFTKECTI
TVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELKNALKGTSKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVT
RACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTEGTVTLNISKSGEITVAL
NDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKECTITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDL
AELKAALKGLENHHHHH

SEQ ID NO: 78

Lip-S4D4-S3D4_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, С-концевая метка His (GLENHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGCTAAAGGTGAACTGTCGGAAAAAACCATCCTGCGCGCCTGTGGCACCC
 GCCTGGAATACACGGAAATCAAGTCGGACGGCACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
 TGCTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTT
 CTGAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGC
 AGGCGACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTC
 GAAAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAATGCACGATCACCGTTCAAAAATATGATTCC
 GCAGGTACCAACCTGGAAGGCAACGCTGTGGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCC
 TGAAGGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
 CTCATTTAACGATAAGGGCAAACCTGTCAGAAAAAGTGGTCACCCGCGCTTGTGGCACCCGCCTG
 GAATACACCGAAATCAAAAACGACGGCTCGGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTTTGCCC
 TGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGGAAGGCACCGTTACGCT
 GTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCACGCCG
 GCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAACTCGC
 AGAAACCGAAGCAACTGGTCTTCACCAAAGAATGCACGATCACCGTGCAGAACTATAATCGTGC
 CGGTAATGCTCTGGAAGGCTCCCCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCGGAACTGAAGGCGGCACTG
 AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 79

S4D1-S3D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNAKGELSEKTILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLKVTCGTV
 VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYD
 SAGTNLEGNAVEIKTLDEL CNALKGTS DKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVTRANGTR
 LEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALEGT LTDGGETKLTVTCGTVTL SKNISKSGEITVALNDTETT
 PADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKENTITVQNYNRAGNALEGSPA EIKDLAELCAA
 LK

SEQ ID NO: 80

Lip-S4D1-S3D1_nt: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAATGCTAAGGGCGAACTGAGCGAAAAAACGATCCTGCGTGCGAATGGCACCC
 GTCTGGAATACACCGAAATCAAATCCGATGGTACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT

TGCTCTGGAAGGTACCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGTT
 CTGAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGC
 AGGCAACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTC
 GAAAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAAGATACGATCACCGTTCAAAAATATGACTCC
 GCGGGCACCAACCTGGAAGGCAATGCCGTCGAAATCAAAACCCTGGATGAACTGTGTAACGCCC
 TGAAGGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
 CTCATTTAACGATAAGGGCAAACCTGTCGGAAAAAGTGGTCACCCGCGCAAATGGCACCCGCCTG
 GAATACACGGAAATCAAAAACGATGGTAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTTTGCCC
 TGGAAGGTACCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGTGCGGCACCGTTACGCT
 GTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCACGCCG
 GCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAACTCGC
 AGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAAAACACGATCACCGTGCAGAACTATAATCGTGC
 CGGTAATGCTCTGGAAGGCTCACCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCTGAACTGTGTGCGGCACTG
 AAA

SEQ ID NO: 81

Lip-S4D1-S3D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNAKGELSEKTILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLK
 VTCGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTI
 TVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELCLNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVT
 RANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTCTGTVTLNISKSGEITVAL
 NDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKENTITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDL
 AELCAALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 82

Lip-S4D1-S3D1_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAATGCTAAGGGCGAACTGAGCGAAAAACGATCCTGCGTGCGAATGGCACCC
 GTCTGGAATACACCGAAATCAAATCCGATGGTACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
 TGCTCTGGAAGGTACCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGTT
 CTGAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGC

AGGCAACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTC
 GAAAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAAGATACGATCACCGTTCAAAAATATGACTCC
 GCGGGCACCAACCTGGAAGGCAATGCCGTGCAAATCAAAACCCTGGATGAACTGTGTAACGCCC
 TGAAGGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
 CTCATTTAACGATAAGGGCAAACCTGTCGAAAAAGTGGTCACCCGCGCAAATGGCACCCGCCTG
 GAATACACGGAAATCAAAAACGATGGTAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTTTGCCC
 TGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGTGCGGCACCGTTACGCT
 GTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCACGCCG
 GCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAACTCGC
 AGAAACCGAAGCAACTGGTCTTCACCAAAGAAAACACGATCACCGTGCAGAACTATAATCGTGC
 CGGTAATGCTCTGGAAGGCTCACCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCTGAACTGTGTGCGGCACTG
 AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 83

S6D4-S5D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1

FNGKGETSEKTIVRACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTEGLTAAADGKTTLKVTEGT
 VVLSKNILKSGETAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECTITVQRY
 DSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTIVRACGT
 RLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTEGLTAAADGKTTLKVTEGTVTLKNISKSGETIVALDDTDS
 SGNKKSGETWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKECTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNA
 LK

SEQ ID NO: 84

Lip-S6D4-S5D4_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGTGAAAAACGATTGTTTCGCGCCTGTGGCACCC
 GCCTGGAATACACGGATATCAAGTCGGATGGTTCGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
 TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTG
 GTTCTGTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCA
 CGCGTGCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGACAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAA
 CTCCCAGAAAACGAAGAATCTGGTGTTACCAAAGAATGCACGATCACCGTTCAACGCTATGAT
 AGTGCGGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATG

CTCTGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAA
 GTACTCATTCAACGAAAAAGGCGAAATCAGTGAAAAAACCATTTGTGCGTGCGTGTGGCACCCGT
 CTGGAATATACCGACATCAAGAGCGATAAAACGGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTTTA
 CGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACCGAAGGTACCCTTAC
 GCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCTCT
 GGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGACTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCGTA
 CGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAAACTATGATAGCGC
 AGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTCTG
 AAA

SEQ ID NO: 85

Lip-S6D4-S5D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNGKGETSEKTIVRACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFLTLEGTLAADGKTTL
 KVTEGTVVLSKNILKSGETAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECT
 ITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTI
 VRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFLTLEGTLAADGKTTLKVTEGTVTLSKNISKSGEITVA
 LDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKECTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTL
 KELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 86

Lip-S6D4-S5D4_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGTGAAAAACGATTGTTTCGCGCCTGTGGCACCC
 GCCTGGAATACACGGATATCAAGTCGGATGGTTCGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
 TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTG
 GTTCTGTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCA
 CGCGTGCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGACAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAA
 CTCCCAGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAGAATGCACGATCACCGTTCAACGCTATGAT
 AGTGCGGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATG
 CTCTGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAA
 GTACTCATTCAACGAAAAAGGCGAAATCAGTGAAAAAACCATTTGTGCGTGCGTGTGGCACCCGT

CTGGAATATACCGACATCAAGAGCGATAAAACGGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTTTA
 CGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACCGAAGGTACCGTTAC
 GCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTTCGCCCTGGATGACACCGATAGCTCT
 GGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGACTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCGTA
 CGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAAACTATGATAGCGC
 AGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTCTG
 AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 87

S6D1-S5D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTTCGT
 VVLSKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRY
 DSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTIVRANGT
 RLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTTCGTVTLSKNISKSGEITVALDDTDS
 SGNKKS GTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNA
 LK

SEQ ID NO: 88

Lip-S6D1-S5D1_nt: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGCGAAAAGACCATCGTGCGTGCGAACGGTACCC
 GCCTGGAATATACGGACATTAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
 TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTG
 GTTCTGTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCA
 CGCGTGCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGATAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAA
 CTCCCAGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAAGAAGATACGATCACCGTTCAACGCTATGAC
 AGTGCGGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATG
 CTCTGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
 GTACTCATTTCAACGAAAAAGGCGAAATCTCAGAAAAAACCATCGTCCGCGCTAACGGCACCCGC
 CTGGAATACACCGACATCAAATCAGACAAGACCGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTTTA
 CGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACCTGCGGTACCGTTAC
 GCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTTCGCCCTGGATGACACCGATAGCTCT

GGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGATTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCGTA
CGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAAGATACGATCACCGTGCAAAACTATGACAGCGC
AGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTCTG
AAA

SEQ ID NO: 89

Lip-S6D1-S5D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFLTLEGTLAADGKTTL
KVTCGTVVLKSKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDT
ITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTI
VRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFLTLEGTLAADGKTTLKVTCGTVTLSKNISKSGEITVA
LDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELCNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 90

Lip-S6D1-S5D1_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGCGAAAAGACCATCGTGCGTGCGAACGGTACCC
GCCTGGAATATACGGACATTAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTG
GTTCTGTCAAAAAACATTTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCA
CGCGTGCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGATAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAA
CTCCCAGAAAACGAAGAATCTGGTGTTACCAAAGAAGATACGATCACCGTTCAACGCTATGAC
AGTGCGGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATG
CTCTGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
GTACTCATTTCAACGAAAAAGGCGAAATCTCAGAAAAAACCATCGTCCGCGCTAACGGCACCCGC
CTGGAATACACCGACATCAAATCAGACAAGACCGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTTTA
CGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACCTGCGGTACCGTTAC
GCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCTCT
GGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGATTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCGTA
CGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAAGATACGATCACCGTGCAAAACTATGACAGCGC

AGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTCTG
AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 91

S1D4-S2D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

FNEKGGEVSEKIIITRACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKEGTV
TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKECTITVQQYD
SNGTKLEGSVEITKLDEIKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMTRENGTK
LEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQ
ATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELNAL
K

SEQ ID NO: 92

Lip-S1D4-S2D1_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAGTCTCGGAAAAATCATTACCCGTGCTTGCGGCACCC
GTCTGGAATACACCGGCATTAAATCGGATGGCAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAGACCACCCTGGTGGTGAAAGAAGGCACCGTTACG
CTGAGCAAAAACATTAGTAAGTCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTG
CGGCCACCAAAAAGACGGCAGCTTGGAAGTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATTC
CAAAAAGACCAAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGC
AACGGTACCAAACTGGAAGGCTCTGCGGTGGAATCACGAAACTGGATGAAATCAAAAATGCTC
TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGAAAAAGGCGAAGTGTGCGGCGAAAACGATGACGCGTGAAAACGGCACCAAACTG
GAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAATGCGGCACCGTTACGCTGTC
AAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGCAAGCG
ACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAATAGCAAGA

AAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAACAAGATACGATCACCGTGCAGAAATACGACAGTGCGGG
TACCAACCTGGAAGGCACGGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGTGTAACGCCCTGAAA
SEQ ID NO: 93

Lip-S1D4-S2D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGEVSEKIITRACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLV
VKEGTVTLNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSTSTLTITVNSKKTDLVFTKECTI
TVQQYDSNGTKLEGSVEITKLDEIKNALKGTSKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMT
RENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLNKEIAKSGEVTVALN
DTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD
ELCNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 94

Lip-S1D4-S2D1_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAGTCTCGGAAAAAATCATTACCCGTGCTTGCAGGCACCC
GTCTGGAATACACCGGCATTAAATCGGATGGCAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCAATGATAAGACCACCCTGGTGGTGAAAGAAGGCACCGTTACG
CTGAGCAAAAACATTAGTAAGTCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTG
CGGCCACCAAAAAGACGGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATTC
CAAAAAGACCAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGC
AACGGTACCAAACTGGAAGGCTCTGCGGTGGAAATCACGAAACTGGATGAAATCAAAAATGCTC
TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGAAAAGGGCGAAGTGTGCGCGAAAACGATGACGCGTGAAAACGGCACCAAACTG
GAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAATGCGGCACCGTTACGCTGTC
AAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGCAAGCG

ACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAATAGCAAGA
 AAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAACAAGATACGATCACCGTGCAGAAATACGACAGTGCGGG
 TACCAACCTGGAAGGCACGGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGTGTAACGCCCTGAAA
 GGCCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 95

S1D1-S2D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной последовательностью NFTLEGKVAND

FNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTV
 TLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYD
 SNGTKLEGSAVEITKLDEICNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMTRECGTK
 LEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQ
 ATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQCTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNAL
 K

SEQ ID NO: 96

Lip-S1D1-S2D4_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAGTCAGCGAAAAAATCATTACCCGCGCAGACGGCACCC
 GCCTGGAATACACCGGCATCAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
 TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAAACCACCCTGGTGGTGAAATGCGGCACCGTTACG
 CTGAGCAAAAACATTAGTAAATCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTG
 CGGCCACCAAGAAAACCGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATAG
 CAAGAAAACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAAAACACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGC
 AATGGTACCAAAGTGAAGGCTCCGCTGTGGAAATCACGAAAGTGGATGAAATCTGTAATGCTC
 TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGAAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAATGCGGCACCAAAGT
 GAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
 TGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAAGAAGGCACCGTTACGCTGTC

AAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGCAAGCG
 ACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAACAGCAAGA
 AAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAAACAATGTACGATCACCGTGCAGAAATACGATAGTGCGGG
 TACCAACCTGGAAGGCACCGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCCTGAAA

SEQ ID NO: 97

Lip-S1D1-S2D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация, С-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipcSSFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLV
 VKCGTVTLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTKENTI
 TVQQYDSNGTKLEGSVEITKLDEICNALKGTSKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMT
 RECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALN
 DTNNTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKTTQLVFTKQCTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD
 ELKNALKGLENNHHHH

SEQ ID NO: 98

Lip-S1D1-S2D4_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLENNHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAGTCAGCGAAAAAATCATTAACCGCGCAGACGGCACCC
 GCCTGGAATACACCGGCATCAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
 TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAAACCACCCTGGTGGTGAAATGCGGCACCGTTACG
 CTGAGCAAAAACATTAGTAAATCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTG
 CGGCCACCAAGAAAACCGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATAG
 CAAGAAAACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAAAACACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGC
 AATGGTACCAAAGTGAAGGCTCCGCTGTGGAATCACGAAAGTGGATGAAATCTGTAATGCTC
 TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAATGCGGCACCAAAGTG
 GAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC

TGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAAGAAGGCACCGTTACGCTGTC
 AAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGCAAGCG
 ACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAACAGCAAGA
 AAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAACAATGTACGATCACCGTGCAGAAATACGATAGTGCGGG
 TACCAACCTGGAAGGCACCGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCCTGAAA
 GGCCTCGAGCACCAACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 99

S3D4-S4D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNEKGLSEKVVTRACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALEGLTDGGETKLTVTEGT
 VTLSKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKECTITVQNY
 NRAGNALEGSPAIEIKDLAELKAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTILRANGT
 RLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGLTAAADKTTLKVTCGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNST
 QATKKTGKWDSTSTLTISVNSKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELCA
 LK

SEQ ID NO: 100

Lip-S3D4-S4D1_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCAAACTGTCAGAAAAAGTGGTCACCCGCGCTTGTGGCACCC
 GCCTGGAATACACCGAAATCAAAAACGACGGCTCGGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTT
 TGCCCTGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGGAAGGCACCGTT
 ACGCTGTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCA
 CGCCGGCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAGGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAA
 CTCGCAGAAACCGAAGCAACTGGTCTTCACCAAGAATGCACGATCACCGTGCAGAACTATAAT
 CGTGCCGGTAATGCTCTGGAAGGCTCCCCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCGGAACTGAAGGCGG
 CACTGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
 GTACTCATTTCAACGCTAAAGGTGAACTGAGCGAAAAACGATCCTGCGTGCGAATGGCACCCGT
 CTGGAATACACCGAAATCAAATCCGATGGTACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTG
 CTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGGTTCT
 GAGCAAACATATTCGAACTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGCAG

GCAACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTCGA
 AAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAAGATACGATCACCGTTCAAAAATATGACTCCGC
 GGGCACCAACCTGGAAGGCAATGCCGTCGAAATCAAAACCCTGGATGAACTGTGTAATGCTCTG
 AAG

SEQ ID NO: 101

Lip-S3D4-S4D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipcSSFNEKGKLSEKVVTRACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKL
 TVTEGTVTLNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSSTLTISKNSQPKQLVFTKECT
 ITVQNYNRAGNALEGSPAELKDLAELKAALKGTSKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTI
 LRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLVKTCGTVVLSKHIPNSGEITVEL
 NDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTL
 DELCNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 102

Lip-S3D4-S4D1_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCAAACCTGTCAGAAAAAGTGGTCACCCGCGCTTGTGGCACCC
 GCCTGGAATACACCGAAATCAAAAACGACGGCTCGGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTT
 TGCCCTGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGGAAGGCACCGTT
 ACGCTGTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCA
 CGCCGGCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAGGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAA
 CTCGCAGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAGTAATAAT
 CGTGCCGGTAATGCTCTGGAAGGCTCCCCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCGGAACCTGAAGGCGG
 CACTGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
 GTACTCATTCACGCTAAAGGTGAACTGAGCGAAAAACGATCCTGCGTGCGAATGGCACCCGT
 CTGGAATACACCGAAATCAAATCCGATGGTACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTG
 CTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGGTTCT
 GAGCAAACATATTCGAACTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGCAG

GCAACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTCGA
 AAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAAGATACGATCACCGTTCAAAAATATGACTCCGC
 GGGCACCAACCTGGAAGGCAATGCCGTCGAAATCAAAACCCTGGATGAACTGTGTAATGCTCTG
 AAGGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 103

S3D1-S4D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNEKGKLSEKVVTRANGLRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTTCGT
 VTLSKNISKSGETVALNDTETTPADKKTGEWKSSTLTISKNSQPKQLVFTKENTITVQNY
 NRAGNALEGSPAIEIKDLAELCAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKITLRACGT
 RLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLKVTEGTVVLSKHIPNSGETITVELNDSNST
 QATKKTGWDSNTSTLTISVNSKTKNIVFTKECTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELKNA
 LK

SEQ ID NO: 104

Lip-S3D1-S4D4_nt: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCAAACGTGTCGAAAAAGTGGTCACCCGCGCAAATGGCACCC
 GCCTGGAATACACGGAATCAAAAACGATGGTAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTT
 TGCCCTGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGTGCGGCACCGTT
 ACGCTGTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCA
 CGCCGGCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAA
 CTCGCAGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAAAACACGATCACCGTGCAGAACTATAAT
 CGTGCCGGTAATGCTCTGGAAGGCTCACCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCTGAACTGTGTGCGG
 CACTGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
 GTACTCATTTCAACGCTAAAGGTGAACTGTGCGAAAAAACCATCCTGCGCGCCTGTGGCACCCGC
 CTGGAATACACGGAATCAAGTCGGACGGCACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTG
 CTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACCACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTTCT
 GAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGCAG
 GCGACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTCGA
 AAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAATGCACGATCACCGTTCAAAAATATGATTCCGC

AGGTACCAACCTGGAAGGCAACGCTGTGGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAATGCTCTG
AAG

SEQ ID NO: 105

Lip-S3D1-S4D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGKLSEKVVTRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKL
TVTCGTVTLTKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSSTLTISKNSQPKPKQLVFTKENT
ITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDLAELCAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTI
LRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLVTEGTVVLSKHIPNSGEITVEL
NDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTL
DELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 106

Lip-S3D1-S4D4_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCAAACCTGTCGGAAGGAGTGGTCACCCGCGCAAATGGCACCC
GCCTGGAATACACGGAATCAAAAACGATGGTAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTT
TGCCCTGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGTGCGGCACCGTT
ACGCTGTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCA
CGCCGGCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAA
CTCGCAGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAAAACACGATCACCGTGCAGAACTATAAT
CGTGCCGGTAATGCTCTGGAAGGCTCACCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCTGAACTGTGTGCGG
CACTGAAAGGCACTAGTGACAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAA
GTACTCATTTCAACGCTAAAGGTGAACTGTCGGAAGGAAACCATCCTGCGCGCCTGTGGCACCCGC
CTGGAATACACGGAATCAAGTCGGACGGCACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTG
CTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTTCT
GAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGCAG
GCGACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTCAAGTCAACTCGA
AAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAATGCACGATCACCGTTCAAAAATATGATTCCGC

AGGTACCAACCTGGAAGGCAACGCTGTGGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAATGCTCTG
AAGGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 107

S5D4-S6D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNEKGEISEKTIVRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLEGLAADGKTTLKVTEGT
VTLSKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNR TKTKQLVFTKECTITVQNYD
SAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIVRANGTR
LEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLEGLAADGKTTLKVTCGT VVLSKNILKSGEITAALDDSDTT
RATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNA
LK

SEQ ID NO: 108

Lip-S5D4-S6D1_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAATCAGTGAAAAAACCATTTGTGCGTGCGTGTGGCACCC
GTCTGGAATATAACCGACATCAAGAGCGATAAAACGGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACCGAAGGTACCGTT
ACGCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCT
CTGGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGACTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCG
TACGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAAACTATGATAGC
GCAGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTC
TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
CTCATTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGCGAAAAGACCATCGTGCGTGCGAACGGTACCCGCCTG
GAATATACGGACATTAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTACGC
TGGAAGGTACCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGGTTCT
GTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCACGCGT
GCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGATAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAACTCCC
AGAAAACGAAGAATCTGGTGTTACCAAAGAAGATACGATCACCGTTCAACGCTATGACAGTGC
GGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTCTG
AAA

SEQ ID NO: 109

Lip-S5D4-S6D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipcSSFNEKGEISEKTIVRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFLTLEGTLAADGKTTLKVTEGTVTLNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKECTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFLTLEGTLAADGKTTLKVTCTGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 110

Lip-S5D4-S6D1_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

ATGAAAGCTACTAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAATCAGTGAAAAAACCATTTGTGCGTGCGTGTGGCACCC GTCTGGAATATAACCGACATCAAGAGCGATAAAACGGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTT TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACACGCTGAAGGTGACCGAAGGTACCGTT ACGCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCT CTGGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGACTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCG TACGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAAACTATGATAGC GCAGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTC TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA CTCATTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGCGAAAAGACCATCGTGCGTGCGAACGGTACCCGCCTG GAATATACGGACATTAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTACGC TGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGGTTCT GTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCACGCGT GCTACGAAAAGACCGGTAAATGGGATAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAACTCCC AGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAGAAGATACGATCACCGTTCAACGCTATGACAGTGC GGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTCTG AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 111

S5D1-S6D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1

FNEKGEISEKTIVRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTEGLTAAADGKTTLKVTCGT
VTLSKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKSGETWDSGTSTLTISKNRKTQKQLVFTKEDTITVQNYD
SAGTNLEGGKAVEITTLKELCNALKGTSKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIVRACGTR
LEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTEGLTAAADGKTTLKVTEGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTT
RATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECTITVQRYDSAGTNLEGGKAVEITTLKELKNA
LK

SEQ ID NO: 112

Lip-S5D1-S6D4_nt: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAATCTCAGAAAAAACCATCGTCCGCGCTAACGGCACCC
GCCTGGAATACACCGACATCAAATCAGACAAGACCGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACACGCTGAAGGTGACCTGCGGTACCGTT
ACGCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCT
CTGGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGATTACGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCG
TACGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAAGATACGATCACCGTGCAAAACTATGACAGC
GCAGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTC
TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGTGAAAAACGATTGTTTCGCGCCTGTGGCACCCGCCTG
GAATACACGGATATCAAGTCGGATGGTTCGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTACGC
TGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTTCT
GTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCACGCGT
GCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGACAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAACTCCC
AGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAAGAATGCACGATCACCGTTCAACGCTATGATAGTGC
GGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTCTG
AAA

SEQ ID NO: 113

Lip-S5D1-S6D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA

серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipcSSFNEKGEISEKTIVRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTL
KVTCGTVTLSKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNR TKTKQLVFTKEDTI
TVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTS DKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIV
RACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTEGTVVLSKNILKSGEITAAL
DDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELKNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 114

Lip-S5D1-S6D4_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLENNHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAGGGCGAAATCTCAGAAAAAACCATCGTCCGCGCTAACGGCACCC
GCCTGGAATACACCGACATCAAATCAGACAAGACCGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACACGCTGAAGGTGACCTGCGGTACCGTT
ACGCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCT
CTGGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGATTACGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCG
TACGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAAGATACGATCACCGTGCAAAACTATGACAGC
GCAGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTC
TGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGTGAAAAACGATTGTTTCGCGCCTGTGGCACCCGCCTG
GAATACACGGATATCAAGTCGGATGGTTCGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTTTACGC
TGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTTCT
GTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCACGCGT
GCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGACAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAACTCCC
AGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAAGAATGCACGATCACCGTTCAACGCTATGATAGTGC
GGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTCTG
AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 115

S2D4-S1D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 2 с

дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

FNEKGELSAKMTRECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTV
 TLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQCTITVQKYD
 SAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIITRADGTR
 LEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTVTLNISKSGEVSVELNDTDSSA
 ATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSVEITKLDEICNAL
 K

SEQ ID NO: 116

Lip-S2D4-S1D1_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной последовательностью NFTLEGKVAND

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAAGGCGAACTGTTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAATGCGGCACCA
 AACTGGAATATACGGAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
 TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAAGAAGGCACCGTTACG
 CTGTCAAAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGC
 AAGCGACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAACAG
 CAAGAAAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAACAATGTACGATCACCGTGCAGAAATACGATAGT
 GCGGGTACCAACCTGGAAGGCACCGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCC
 TGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGAAAAAGGCGAAGTCAGCGAAAAAATCATTAACCGCGCAGACGGCACCCGCCTG
 GAATACACCGGCATCAAATCGGACGGCAGCGGCAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
 TGGAAGGCAAAGTCGCAATGATAAAACCACCCTGGTGGTGAAATGCGGCACCGTTACGCTGAG
 CAAAAACATTAGTAAATCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTGCGGCC
 ACCAAGAAAACCGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATAGCAAGA
 AAACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAAAACACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGCAATGG
 TACCAAAGTGAAGGCTCCGCTGTGGAATCACGAAAGTGGATGAAATCTGTAATGCACTGAAA

SEQ ID NO: 117

Lip-S2D4-S1D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA

серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNEKGELSAKTMTRCGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLE
VKEGTVTSLKEIAKSGETVVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQCTI
TVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGGEVSEKIIT
RADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTVTSLSKNISKSGEVSVELN
DTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSVEITKLD
EICNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 118

Lip-S2D4-S1D1_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAATGCGGCACCA
AACTGGAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAAGAAGGCACCGTTACG
CTGTCAAAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGC
AAGCGACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAACAG
CAAGAAAACACGCGAGCTGGTCTTCACCAACAATGTACGATCACCGTGCAGAAATACGATAGT
GCGGGTACCAACCTGGAAGGCACCGCTGTTGAAATCAAAACCTGGACGAACTGAAAAACGCCC
TGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
CTCATTTCAACGAAAAAGGCGAAGTCAGCGAAAAAATCATTTACCCGCGCAGACGGCACCCGCCTG
GAATACACCGGCATCAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCAAATGATAAAACCACTGGTGGTGAAATGCGGCACCGTTACGCTGAG
CAAAAACATTAGTAAATCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTGCGGCC
ACCAAGAAAACCGCAGCTTGGAAGTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATAGCAAGA
AAACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAAAACACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGCAATGG
TACCAAACCTGGAAGGCTCCGCTGTGGAAATCACGAAACTGGATGAAATCTGTAATGCACTGAAA
GGTCTCGAGCACCAACCACCAACCAC

SEQ ID NO: 119

S2D1-S1D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

FNEKGELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTV
 TLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQLVFTKQDTITVQKYD
 SAGTNLEGTAVEIKTLDELCLNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIITRACGTR
 LEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKEGTVTLNISKSGEVSVELNDTDSSA
 ATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKECTITVQQYDSNGTKLEGSVEITKLDEIKNAL
 K

SEQ ID NO: 120

Lip-S2D1-S1D4_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGAAAAAGGCGAACTGTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAAAACGGCACCA
 AACTGGAATATACGGAAATGAAAAGCGATGGCACCCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
 TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAATGCGGCACCGTTACG
 CTGTCAAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGC
 AAGCGACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAATAG
 CAAGAAAACACGCGAGCTGGTCTTCACCAACAAGATACGATACCGTGCAGAAATACGACAGT
 GCGGGTACCAACCTGGAAGGCACGGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGTGTAACGCCC
 TGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
 CTCATTCAACGAAAAAGGCGAAGTCTCGGAAAAAATCATTACCCGTGCTTGCGGCACCCGTCTG
 GAATACACCGGCATTAAATCGGATGGCAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
 TGGAAGGCAAAGTCGCAAAATGATAAGACCACCCTGGTGGTGAAAGAAGGCACCGTTACGCTGAG
 CAAAAACATTAGTAAGTCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTGCGGCC
 ACCAAAAAGACGGCAGCTTGGAACCTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATTCCAAAA
 AGACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGCAACGG
 TACCAAACCTGGAAGGCTCTGCGGTGGAATCACGAACTGGATGAAATCAAAAATGCACTGAAA

SEQ ID NO: 121

Lip-S2D1-S1D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1- подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация, С-концевая метка His (GLENNHHHHH)

LipcSSFNEKGELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLE
VKCGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTI
TVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELCLNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGGEVSEKIIT
RACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKEGTVTLNISKSGEVSVELN
DTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKECTITVQYDSNGTKLEGSVEITKLD
EIKNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 122

Lip-S2D1-S1D4_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, С-концевая метка His (GLENNHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGAAAAAGGCGAACTGTTCGGCGAAAACGATGACGCGTGAAAACGGCACCA
AACTGGAATATACGGAATGAAAAGCGATGGCACCGGTAAAGCGAAAGAAGTTCTGAAAACTT
TACCCTGGAAGGCAAAGTCGCCAATGACAAAGTCACCCTGGAAGTGAAATGCGGCACCGTTACG
CTGTCAAAAAGAAATTGCAAAATCGGGTGAAGTGACCGTTGCTCTGAACGATACGAATACCACGC
AAGCGACCAAGAAAACCGGCGCCTGGGACAGCAAAACCTCTACGCTGACCATTAGTGTTAATAG
CAAGAAAACCACGCAGCTGGTCTTCACCAAAACAAGATACGATCACCGTGCAGAAATACGACAGT
GCGGGTACCAACCTGGAAGGCACGGCTGTTGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGTGTAACGCCC
TGAAAGGCACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTCACGAAAAAGGCGAAGTCTCGGAAAAAATCATTAACCGTGCTTGCGGCACCCGTCTG
GAATACACCGGCATTAAATCGGATGGCAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAACTTTACCC
TGGAAGGCAAAGTCGCAATGATAAGACCACCCTGGTGGTGAAAGAAGGCACCGTTACGCTGAG
CAAAAACATTAGTAAGTCCGGTGAAGTCTCTGTGGAAGTGAATGATACCGACAGCTCTGCGGCC
ACCAAAAAGACGGCAGCTTGGAAGTCAAGGCACCTCGACGCTGACCATTACGGTTAATTCCAAA
AGACCAAAGATCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACCATCACGGTGCAGCAATATGACAGCAACGG

TACCAAAGCTGGAAGGCTCTGCGGTGGAAATCACGAAACTGGATGAAATCAAAAATGCACTGAAA
GGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 123

S4D4-S3D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNAKGELSEKTILRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLKVTEGTV
VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTITVQKYD
SAGTNLEGNAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVTRANGTR
LEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALEGTLTLDGGETKLTVTCTGTVTLNLSKNISKSGETITVALNDTETT
PADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENTITVQNYNRAGNALEGSPAETIKDLAELCAA
LK

SEQ ID NO: 124

Lip-S4D4-S3D1_nt: Кодированная последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGCTAAAGGTGAACTGTTCGGAACCAACCATCCTGCGCGCCTGTGGCACCC
GCCTGGAATACACGGAATCAAGTCGGACGGCACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TGCTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTT
CTGAGCAAACATATTCCGAACTCTGGTGAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGC
AGGCGACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAAGTCAACTC
GAAAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAATGCACGATCACCGTTCAAAAATATGATTCC
GCAGGTACCAACCTGGAAGGCAACGCTGTGGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCC
TGAAGGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
CTCATTTAACGATAAGGGCAAACCTGTTCGGAACCAAGTGGTCACCCGCGCAAATGGCACCCGCCTG
GAATACACGGAATCAAAAACGATGGTAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTTTGCCC
TGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACTGACCGTGACGTGCGGCACCGTTACGCT
GTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCACGCCG
GCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAACTCGC
AGAAACCGAAGCAACTGGTCTTCACCAAGAAAAACACGATCACCGTGCAAGAACTATAATCGTGC
CGGTAATGCTCTGGAAGGCTCACCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCTGAACTGTGTGCGGCACTG
AAA

SEQ ID NO: 125

Lip-S4D4-S3D1_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевой CSS для введения липидов, N-концевая липидация, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNAKGELSEKTILRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLK
VTEGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTI
TVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGLSEKVVT
RANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTCTGTVTLNISKSGEITVAL
NDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENTITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDL
AELCAALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 126

Lip-S4D4-S3D1_His_nt: Кодированная последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGCTAAAGGTGAACTGTCGGAACCAACATCCTGCGCGCCTGTGGCACCC
GCCTGGAATACACGGAAATCAAGTCGGACGGCACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TGCTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTGGTT
CTGAGCAAACATATTCCGAACTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGC
AGGCGACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAAGTCAACTC
GAAAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAATGCACGATCACCGTTCAAAAATATGATTCC
GCAGGTACCAACCTGGAAGGCAACGCTGTGGAAATCAAAACCCTGGACGAACTGAAAAACGCCC
TGAAGGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAGATGGCAAGTA
CTCATTTAACGATAAGGGCAAACCTGTCGGAACCAAGTGGTCACCCGCGCAAATGGCACCCGCCTG
GAATACACGGAAATCAAAAACGATGGTAGCGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTTTGCCC
TGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACTGACCGTGACGTGCGGCACCGTTACGCT
GTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCACGCCG
GCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAAAGTGACACCTCCACGCTGACCATTTTCAAAGAACTCGC
AGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAAAACACGATCACCGTGCAAGAACTATAATCGTGC
CGGTAATGCTCTGGAAGGCTCACCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCTGAACTGTGTGCGGCACTG
AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 127

S4D1-S3D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1

FNAKGELSEKTILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLKVTCGTV
VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYD
SAGTNLEGNAVEIKTLDELNCNALKGTSKNNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGLSEKVVTRACGTR
LEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALEGTLDGGETKLTVTETGTVTLNISKSGEITVALNDTETT
PADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKECTITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDLAELKAA
LK

SEQ ID NO: 128

Lip-S4D1-S3D4_nt: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAATGCTAAGGGCGAACTGAGCGAAAAACGATCCTGCGTGCGAATGGCACCC
GTCTGGAATACACCGAAATCAAATCCGATGGTACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TGCTCTGGAAGGTACCCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGTT
CTGAGCAAACATATTCCGAACCTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGC
AGGCAACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTC
GAAAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAAGATACGATCACCGTTCAAAAATATGACTCC
GCGGGCACCAACCTGGAAGGCAATGCCGTCGAAATCAAAACCCTGGATGAACTGTGTAACGCCC
TGAAGGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTTAACGATAAGGGCAAACCTGTCAGAAAAAGTGGTCACCCGCGCTTGTGGCACCCGCCTG
GAATACACCGAAATCAAAAACGACGGCTCGGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTTTGCCC
TGGAAGGTACCCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGGAAGGCACCGTTACGCT
GTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCACGCCG
GCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAGGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAACTCGC
AGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAGAACTATAATCGTGC
CGGTAATGCTCTGGAAGGCTCCCCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCGGAACTGAAGGCGGCACTG
AAA

SEQ ID NO: 129

Lip-S4D1-S3D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов,

линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipcSSFNAGELSEKILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLK
VTCGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTI
TVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELCLNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVT
RACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTGTVTLNISKSGEITVAL
NDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKECTITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDL
AELKAALKGLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 130

Lip-S4D1-S3D4_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAATGCTAAGGGCGAACTGAGCGAAAAACGATCCTGCGTGCGAATGGCACCC
GTCTGGAATACACCGAAATCAAATCCGATGGTACGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TGCTCTGGAAGGTACCTGGCGGCCGACAAAACACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTGTT
CTGAGCAAACATATTCCGAACTCTGGTGAAATCACCGTTGAACTGAACGATAGCAATTCTACGC
AGGCAACCAAAAAGACGGGCAAATGGGACAGTAATACCTCCACGCTGACCATTTTCAGTCAACTC
GAAAAAGACCAAAAATATTGTGTTACGAAGGAAGATACGATCACCGTTCAAAAATATGACTCC
GCGGGCACCAACCTGGAAGGCAATGCCGTCGAAATCAAAACCCTGGATGAACTGTGTAACGCCC
TGAAGGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAAGTA
CTCATTTAACGATAAGGGCAAACCTGTCAGAAAAAGTGGTCACCCGCGCTTGTGGCACCCGCCTG
GAATACACCGAAATCAAAAACGACGGCTCGGGCAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGGCTTTGCCC
TGGAAGGTACCTGACGGATGGCGGTGAAACCAAACCTGACCGTGACGGAAGGCACCGTTACGCT
GTCTAAAAACATTAGCAAGTCTGGTGAAATCACGGTCGCACTGAATGATACCGAAACCACGCCG
GCTGACAAAAAGACCGGCGAATGGAAGGTGACACCTCCACGCTGACCATTTCAAAGAACTCGC
AGAAACCGAAGCAACTGGTCTTACCAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAGAACTATAATCGTGC
CGGTAATGCTCTGGAAGGCTCCCCGGCTGAAATCAAGGACCTGGCGGAACTGAAGGCGGCACTG
AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 131

S6D4-S5D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1, линкерная последовательность LN1

FNGKGETSEKTIVRACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTEGT
 VVLSKNILKSGETAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECTITVQRY
 DSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTIVRANGT
 RLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTCGTVTLNISKSGEITVALDDTDS
 SGNKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNA
 LK

SEQ ID NO: 132

Lip-S6D4-S5D1_nt: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
 TGCTCAAGCTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGTGAAAAACGATTGTTTCGCGCCTGTGGCACCC
 GCCTGGAATACACGGATATCAAGTCGGATGGTTCGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
 TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTG
 GTTCTGTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCA
 CGCGTGCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGACAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAA
 CTCCCAGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAAGAATGCACGATCACCGTTCAACGCTATGAT
 AGTGCGGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATG
 CTCTGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAA
 GTACTCATTTCAACGAAAAAGGCGAAATCTCAGAAAAAACCATCGTCCGCGCTAACGGCACCCGC
 CTGGAATACACCGACATCAAATCAGACAAGACCGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTTTA
 CGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACCTGCGGTACCGTTAC
 GCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCTCT
 GGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGATTACAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCGTA
 CGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAAGATACGATCACCGTGCAAAACTATGACAGCGC
 AGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTCTG
 AAA

SEQ ID NO: 133

Lip-S6D4-S5D1_His_ak: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLENHHHHH)

LipcSSFNGKGETSEKTIVRACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTL
KVTEGTVVLSKNILKSGETAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECT
ITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTI
VRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTLKVTCGTVTLSKNISKSGEITVA
LDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELCNALKGLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 134

Lip-S6D4-S5D1_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLEHHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGTGAAAAACGATTGTTTCGCGCCTGTGGCACCC
GCCTGGAATACACGGATATCAAGTCGGATGGTTCGGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACACGCTGAAGGTGACGGAAGGCACCGTG
GTTCTGTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCA
CGCGTGCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGACAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAA
CTCCCAGAAAACGAAGAATCTGGTGTTCACCAAAGAATGCACGATCACCGTTCAACGCTATGAT
AGTGCGGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATG
CTCTGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAA
GTACTCATTTCAACGAAAAAGGCGAAATCTCAGAAAAAACCATCGTCCGCGCTAACGGCACCCGC
CTGGAATACACCGACATCAAATCAGACAAGACCGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTTTA
CGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACACGCTGAAGGTGACCTGCGGTACCGTTAC
GCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCTCT
GGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGATTACAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCGTA
CGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAAGATACGATCACCGTGCAAAACTATGACAGCGC
AGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATGCTCTG
AAAGGTCTCGAGCACCACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 135

S6D1-S5D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4, линкерная последовательность LN1

FNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTLKVTCGT
VVLSKNILKSGETAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRY

DSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTIVRACGT
RLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTEGTVTLNISKSGEITVALDDTDS
SGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKECTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNA
LK

SEQ ID NO: 136

Lip-S6D1-S5D4_nt: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4, *E. coli* сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGCGAAAAGACCATCGTGCGTGCGAACGGTACCC
GCCTGGAATATACGGACATTAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTG
GTTCTGTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCA
CGCGTGCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGATAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAA
CTCCCAGAAAACGAAGAATCTGGTGTTACCAAAGAAGATACGATCACCGTTCAACGCTATGAC
AGTGCGGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATG
CTCTGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAA
GTACTCATTCAACGAAAAAGGCGAAATCAGTGAAAAAACCATTTGTGCGTGCGTGTTGGCACCCGT
CTGGAATATACCGACATCAAGAGCGATAAACGGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTTTA
CGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAACCACGCTGAAGGTGACCGAAGGTACCGTTAC
GCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCTCT
GGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGACTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCGTA
CGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAAACTATGATAGCGC
AGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTCTG
AAA

SEQ ID NO: 137

Lip-S6D1-S5D4_His_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipcSSFNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTL
KVTCGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDT

ITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTI
VRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLLEGTLAADGKTTLKVTEGTVTLSKNISKSGEITVA
LDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKECTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 138

Lip-S6D1-S5D4_His_nt: Кодирующая последовательность для гетеродимерного слитого белка OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4, E. coli сигнал липидации lpp, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

ATGAAAGCTACTAAACTGGTACTGGGCGCGGTAATCCTGGGTTCTACTCTGCTGGCAGGT
TGCTCAAGCTTCAACGGCAAAGGTGAAACGAGCGAAAAGACCATCGTGCGTGCGAACGGTACCC
GCCTGGAATATACGGACATTAAATCGGACGGCAGCGGCAAAGCAAAGGAAGTCCTGAAAGATTT
TACGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACGTGCGGCACCGTG
GTTCTGTCAAAAAACATTCTGAAGTCGGGTGAAATCACCGCAGCTCTGGATGACAGCGATACCA
CGCGTGCTACGAAAAAGACCGGTAAATGGGATAGCAAGACCTCTACGCTGACCATTAGTGTCAA
CTCCCAGAAAACGAAGAATCTGGTGTTACCAAAGAAGATACGATCACCGTTCAACGCTATGAC
AGTGCGGGCACCAACCTGGAAGGCAAAGCCGTTGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGTGTAATG
CTCTGAAAGGTACTAGTGACAAAAACAATGGCTCTGGTAGCAAAGAGAAAAACAAAGATGGCAA
GTACTCATTCAACGAAAAAGGCGAAATCAGTGAAAAAACCATTTGTGCGTGCGTGTTGGCACCCGT
CTGGAATATACCGACATCAAGAGCGATAAAACGGGTAAAGCGAAGGAAGTTCTGAAAGATTTTA
CGCTGGAAGGTACCCTGGCAGCAGACGGTAAAACCACGCTGAAGGTGACCGAAGGTACCGTTAC
GCTGTCCAAAAACATTAGTAAGTCCGGCGAAATCACGGTCGCCCTGGATGACACCGATAGCTCT
GGCAACAAAAAGAGCGGTACCTGGGACTCAGGCACCTCGACGCTGACCATTTCTAAAAATCGTA
CGAAAACCAAGCAGCTGGTCTTCACGAAAGAATGCACGATCACCGTGCAAAACTATGATAGCGC
AGGTACCAATCTGGAAGGCAAAGCTGTGGAAATTACCACGCTGAAAGAACTGAAGAATGCTCTG
AAAGGTCTCGAGCACCAACCACCACCACCAC

SEQ ID NO: 140

Lip-S2D0-His: аминокислоты в положениях 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2, последовательность дикого типа, N-концевой CKQN для введения липидов, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipCKQNELSAKTM TRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTVLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDLKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 141

Lip-S2D1-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 (ак 182 и 269), N-концевой CKQN для введения липидов, С-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELCNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 142

Lip-S2D2-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 2 (ак 182 и 272), N-концевой CKQN для введения липидов, С-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNACKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 143

Lip-S2D3-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 3 (ак 244 и 259), N-концевой CKQN для введения липидов, С-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTICVQK
YDSAGTNLEGTCVEIKTLDELKNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 144

Lip-S2D4-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4 (ак 141 и 241), N-концевой CKQN для введения липидов, С-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipCKQNELSAKMTRECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQCTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGLENNHHHHH

SEQ ID NO: 145

Lip-S2D5-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 5 (ак 165 и 265), N-концевой CKQN для введения липидов, С-концевая метка His

(GLEHHHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNCTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTCDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 146

Lip-S2D6-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 6 (ак 185 и 272), N-концевой CKQN для введения липидов, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TCTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNACKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 147

Lip-S2D7-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 7 (ак 199 и 223), N-концевой CKQN для введения липидов, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTCALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTCTISVNSKKTQTQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 148

Lip-S2D8-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 8 (ак 243 и 262), N-концевой CKQN для введения липидов, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTCTVQK
YDSAGTNLEGTAVECKTLDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 149

Lip-S2D9-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 9 (ак 184 и 204), N-концевой CKQN для введения липидов, C-концевая метка His (GLEHHHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
CVTLSKEIAKSGEVTVALNDCNNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGLEHHHHHH

SEQ ID NO: 150

Lip-S2D10-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 10 (ак 201 и 214), N-концевой CKQN для введения липидов, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVACNDTNTTQATKKTCAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGLENNHHHH

SEQ ID NO: 151

Lip-S2D11-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 11 (ак 246 и 259), N-концевой CKQN для введения липидов, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVCK
YDSAGTNLEGTCVEIKTLDELKNALKGLENNHHHH

SEQ ID NO: 152

Lip-S2D12-His: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 12 (ак 167 и 178), N-концевой CKQN для введения липидов, C-концевая метка His (GLENNHHHH)

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTCEGKVANDKVTCEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGLENNHHHH

SEQ ID NO: 153

Lip-S2D0: аминокислоты в положениях 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2, последовательность дикого типа, N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 154

Lip-S2D1: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 (ак 182 и 269), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVCG

TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELCNALK

SEQ ID NO: 155

Lip-S2D2: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 2 (ак 182 и 272), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNACK

SEQ ID NO: 156

Lip-S2D3: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 3 (ак 244 и 259), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTICVQK
YDSAGTNLEGTCVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 157

Lip-S2D4: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4 (ак 141 и 241), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQCTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 158

Lip-S2D5: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 5 (ак 165 и 265), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNCTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTCDELKNALK

SEQ ID NO: 159

Lip-S2D6: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 6 (ак 185 и 272), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TCTLKSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTQLVFTKQDTITVQK

YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNACK

SEQ ID NO: 160

Lip-S2D7: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 7 (ак 199 и 223), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTCALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTCTISVNSKKTQTLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 161

Lip-S2D8: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 8 (ак 243 и 262), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTLVFTKQDTCTVQK
YDSAGTNLEGTAVECKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 162

Lip-S2D9: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 9 (ак 184 и 204), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
CVTLSKEIAKSGEVTVALNDCNNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 163

Lip-S2D10: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 10 (ак 201 и 214), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVACNDTNTTQATKKTCAWDSKTSTLTISVNSKKTQTLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 164

Lip-S2D11: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 11 (ак 246 и 259), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQTLVFTKQDTITVCK
YDSAGTNLEGTCVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 165

Lip-S2D12: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 12 (ак 167 и 178), N-концевой CKQN для введения липидов

LipCKQNELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTCEGKVANDKVTCEVKEG
TVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQK
YDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 166

S2D0: аминокислоты в положениях 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2, последовательность дикого типа
ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 167

S2D1: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 (ак 182 и 269)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELCNALK

SEQ ID NO: 168

S2D2: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 2 (ак 182 и 272)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNACK

SEQ ID NO: 169

S2D3: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 3 (ак 244 и 259)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTICVQKYDSAGTNLEGTCVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 170

S2D4: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4 (ак 141 и 241)

ELSAKMTRECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQCTITVQKYDSAGTN

LEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 171

S2D5: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 5 (ак 165 и 265)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNCTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTCDELKNALK

SEQ ID NO: 172

S2D6: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 6 (ак 185 и 272)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTCTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNACK

SEQ ID NO: 173

S2D7: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 7 (ак 199 и 223)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTCALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTCTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 174

S2D8: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 8 (ак 243 и 262)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTCTVQKYDSAGTN
LEGTAVECKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 175

S2D9: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 9 (ак 184 и 204)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGCVTLSKE
IAKSGEVTVALNDCNNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 176

S2D10: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 10 (ак 201 и 214)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVACNDTNTTQATKKTCAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN

LEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 177

S2D11: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 11 (ак 246 и 259)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVCKYDSAGTN
LEGTCVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 178

S2D12: ак 131-273 *Borrelia afzelii*, штамм K78, OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 12 (ак 167 и 178)

ELSAKMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTCEGKVANDKVTCEVKEGTVTLSKE
IAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTN
LEGTAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 179

B. burgdorferi s.s. (штамм B31, серотип 1), OspA_aa 126-273
с замененной hLFA-подобной последовательностью из OspA серотипа 1

FNEKGEVSEKIIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKEGTV
TL SKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTKDLVFTKENTITVQQYD
SNGTKLEGS AVEITKLDEIKNALK

SEQ ID NO: 180

B. garinii (штамм PBr, серотип 3), OspA_ак 126-274

FNDKGLSEKVVTRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTEGT
VTLSKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENTITVQNY
NRAGNALEGSPA EIKDLAELKAALK

SEQ ID NO: 181

B. bavariensis (штамм PBi, серотип 4), OspA_ак 126-273

FNAKGELSEKTILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLKVTEGTV
VLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYD
SAGTNLEGNAVEIKTLDELKNALK

SEQ ID NO: 182

B. garinii (штамм PHei, серотип 5), OspA_ак 126-273

FNEKGEISEKTIVRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTLKVTEGT
VTLSKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNR TKTKQLVFTKEDTITVQNYD
SAGTNLEGKAVEITTLKELKNALK

SEQ ID NO: 183

B. garinii (штамм DK29, серотип 6), OspA_aa 126-274

FNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTLKVTEGT
VVLSKNILKSGETAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRY
DSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALK

SEQ ID NO: 184

LN1 пептидный линкер, сконструированный из двух отдельных петлевых участков N-концевой половины OspA с *B. burgdorferi* s.s., штамм B31 (ак 65-74 и ак 42-53, замена аминокислоты в положении 53: D53S)

GTSDKNNGSGSKEKNKDGKYS

SEQ ID NO: 185

Lip-S1D4-S2D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 1 и 2, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND

LipcSSFNEKGEVSEKIITRACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLV
VKEGTVTLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTKECTI
TVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLDEIKNALKGTSKDNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMT
RECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALN
DTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQVLVFTKQCTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD
ELKNALK

SEQ ID NO: 186

Lip-S1D1-S2D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLV
VKCGTVTLSKNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTKENTI
TVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLDEICNALKGTSKDNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMT
RENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVVKCGTVTLSKEIAKSGEVTVALN
DTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQVLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD
ELCNALK

SEQ ID NO: 187

Lip-S3D4-S4D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа

3 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGKLSEKVVTRACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALLEGTLTDGGETKL
TVTEGTVTLTKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKECT
ITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDLAELKAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTI
LRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALLEGTLAADKTTTLKVTEGTVVLKHIPNSGEITVEL
NDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTL
DELKNALK

SEQ ID NO: 188

Lip-S3D1-S4D1_aa: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 3 и 4, оба с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGKLSEKVVTRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALLEGTLTDGGETKL
TVTCGTVTLTKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENT
ITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDLAELCAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTI
LRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALLEGTLAADKTTTLKVTCGTVVLKHIPNSGEITVEL
NDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTL
DELCNALK

SEQ ID NO: 189

Lip-S5D4-S6D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 5 и 6, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGEISEKTIVRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTL
KVTEGTVTLTKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKECTI
TVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIV
RACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTLKVTEGTVVLKKNILKSGEITAAL
DDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELKNALK

SEQ ID NO: 190

Lip-S5D1-S6D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 6, оба с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGEISEKTIVRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLEGTLAADGKTTL

KVTCGTVTL SKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKS GTWDSGTSTLTISK NRTKTKQLVFTKEDTI
TVQNYDSAGTNLE GKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIV
RANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTL EGT LAADGKTTLKVTCGTVVLSKNILKSGEITAAL
DDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSAGTNLE GKAVEITTL
KELCNALK

SEQ ID NO: 191

Lip-S2D4-S1D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGELSAKTMTR ECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLE
VKEGTVTL SK EIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGA WDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQCTI
TVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIT
RACGTRLEYTG IKS DGS GKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKEGTVTL SKNISKSGEVSVELN
DTDSSAATKKTA AWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKECTITVQQYDSNGTKLEGS AVEITKLD
EIKNALK

SEQ ID NO: 192

Lip-S2D1-S1D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 2 и 1, оба с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGELSAKTMTR ENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLE
VKCGTVTL SK EIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGA WDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTI
TVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDEL CNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIT
RADGTRLEYTG IKS DGS GKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTVTL SKNISKSGEVSVELN
DTDSSAATKKTA AWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGS AVEITKLD
EICNALK

SEQ ID NO: 193

Lip-S4D4-S3D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNAKGELSEKTILRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGT LAADKTTLK
VTEGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTI

TVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVT
 RACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALEGLTLDGGETKLTVTTEGTVTLNISKSGEITVAL
 NDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKECTITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDL
 AELKAALK

SEQ ID NO: 194

Lip-S4D1-S3D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 4 и 3, оба с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNAKGELSEKTI LRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGLTAAADKTTLK
 VTCGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTI
 TVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVT
 RANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALEGLTLDGGETKLTVTTCGTVTLNISKSGEITVAL
 NDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQPKQLVFTKENTITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDL
 AELCAALK

SEQ ID NO: 195

Lip-S6D4-S5D4_aa: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNGKGETSEKTIVRACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTEGLTAAADGKTTL
 KVTEGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQTKNLVFTKECT
 ITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTI
 VRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTEGLTAAADGKTTLKVTEGTVTLNISKSGEITVA
 LDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKECTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTL
 KELKNALK

SEQ ID NO: 196

Lip-S6D1-S5D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипов 6 и 5, оба с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTEGLTAAADGKTTL
 KVTCGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQTKNLVFTKEDT
 ITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTI
 VRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTEGLTAAADGKTTLKVTCGTVTLNISKSGEITVA
 LDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTL

KELCNALK

SEQ ID NO: 197

Lip-S1D4-S2D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGEVSEKIITRACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLV
VKEGTVTTLNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTKECTI
TVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLDEIKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMT
RENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKCGTVTLSKEIAKSGEVTVALN
DTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKTTQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD
ELCNALK

SEQ ID NO: 198

Lip-S1D1-S2D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGEVSEKIITRADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLV
VKEGTVTTLNISKSGEVSVELNDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTKENTI
TVQQYDSNGTKLEGSAVEITKLDEICNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGELSAKTMT
RECGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALN
DTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKTTQLVFTKQCTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLD
ELKNALK

SEQ ID NO: 199

Lip-S3D4-S4D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGKLSEKVVTRACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALLEGTLTDGGETKL
TVTEGTVTTLNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSSTSTLTISKNSQKPKQLVFTKECT
ITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDLAELKAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTI
LRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALLEGTLAADKTTLVKTCGTVVLSKHIPNSGEITVEL

NDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTL
DELCNALK

SEQ ID NO: 200

Lip-S3D1-S4D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGKLSEKVVTRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKL
TVTCGTVTLTKNISKSGEITVALNDTETTPADKKTGEWKSSTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENT
ITVQNYNRAGNALEGSPAIEIKDLAELCAALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNAKGELSEKTI
LRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAADKTTLVTEGTVVLSKHIPNSGEITVEL
NDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTITVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTL
DELKNALK

SEQ ID NO: 201

Lip-S5D4-S6D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGEISEKTIVRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLGTLAADGKTTL
KVTEGTVTLTKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKECTI
TVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIV
RANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLGTLAADGKTTLKVTCGTVVLSKNILKSGEITAAL
DDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELCNALK

SEQ ID NO: 202

Lip-S5D1-S6D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGEISEKTIVRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDFTLGTLAADGKTTL
KVTCGTVTLTKNISKSGEITVALDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNRKTKQLVFTKEDTI
TVQNYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNGKGETSEKTIV
RACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLGTLAADGKTTLKVTEGTVVLSKNILKSGEITAAL
DDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECTITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELKNALK

SEQ ID NO: 203

Lip-S2D4-S1D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGELSAKTMTRCGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLE
VKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQCTI
TVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIT
RADGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTVTLSKNISKSGEVSVELN
DTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSAREITKLD
EICNALK

SEQ ID NO: 204

Lip-S2D1-S1D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 2 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 1 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, ак 164-174 OspA серотипа 1 замененные не-hLFA-1-подобной последовательностью NFTLEGKVAND, N-концевая липидация

LipcSSFNEKGELSAKTMTRENGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLE
VKCGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTTLVFTKQDTI
TVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEVSEKIIT
RACGTRLEYTGIKSDGSGKAKEVLKNFTLEGKVANDKTTLVVKCGTVTLSKNISKSGEVSVELN
DTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKECTITVQQYDSNGTKLEGSAREITKLD
EIKNALK

SEQ ID NO: 205

Lip-S4D4-S3D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNAKGELSEKTILRACGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLK
VTEGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKECTI
TVQKYDSAGTNLEGNAREIKTLDELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGLSEKVV
RANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLTVTTCGTVTLSKNISKSGEITVAL
NDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKENTITVQNYNRAGNALEGSPAIEKDL
AELCAALK

SEQ ID NO: 206

Lip-S4D1-S3D4_ак: Кодирующая последовательность для промежуточного и конечного гетеродимерных слитых белков OspA серотипа 4 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 3 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNAKGELSEKTI LRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALEGTLAADKTTLK
VTCGTVVLSKHIPNSGEITVELNDSNSTQATKKTGKWDSNTSTLTISVNSKKTKNIVFTKEDTI
TVQKYDSAGTNLEGNAVEIKTLDEL CNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNDKGKLSEKVVT
RACGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFAL EGTLT DGGETKLT VTEGTVTL SKNISKSGEITVAL
NDTETTPADKKTGEWKSDTSTLTISKNSQKPKQLVFTKECTITVQNYNRAGNALEGSPA EIKDL
AELKAALK

SEQ ID NO: 207

Lip-S6D4-S5D1_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 4 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 1, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNGKGETSEKTIVRACGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDF TLEGT LAADGKTTL
KVTEGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKECT
ITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELKNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTI
VRANGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDF TLEGT LAADGKTTLKVTCGTVTL SKNISKSGEITVA
LDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNR TKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELCNALK

SEQ ID NO: 208

Lip-S6D1-S5D4_ак: Гетеродимерный слитый белок OspA серотипа 6 с дисульфидной связью типа 1 и OspA серотипа 5 с дисульфидной связью типа 4, N-концевой CSS для введения липидов, линкерная последовательность LN1, N-концевая липидация

LipcSSFNGKGETSEKTIVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDF TLEGT LAADGKTTL
KVTCGTVVLSKNILKSGEITAALDDSDTTRATKKTGKWDSKTSTLTISVNSQKTKNLVFTKEDT
ITVQRYDSAGTNLEGKAVEITTLKELCNALKGTSDKNNGSGSKEKNKDGKYSFNEKGEISEKTI
VRACGTRLEYTDIKSDKTGKAKEVLKDF TLEGT LAADGKTTLKVTEGTVTL SKNISKSGEITVA
LDDTDSSGNKKSGTWDSGTSTLTISKNR TKTKQLVFTKECTITVQNYDSAGTNLEGKAVEITTL
KELKNALK

SEQ ID NO: 209

B. afzelii (штамм K78; OspA серотипа 2) ак 17-273,

последовательность сигнала липидации изъятая (ак 1-16: MKKYLLGIGLILALIA), С-концевая метка His (GLEHHHHHH)

CKQNVSSLDEKNSASVDLPGEMKVLVSKEKDKDGKYSKATVDKIELKGTSDKDNNGSGVL
EGTKDDKSKAKLTIADDLSKTTFELFKEDGKTLVSRKVSSKDKTSTDEMFNEKGELSAKTMRE
NGTKLEYTEMKSDGTGKAKEVLKNFTLEGKVANDKVTLEVKEGTVTLSKEIAKSGEVTVALNDT
NTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDEL
KNALKGLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 210

B. burgdorferi (OspA серотипа 1, штамм ZS7) ак 17-273,
последовательность сигнала липидации изъятая (ак 1-16: MKKYLLGIGLILALIA), С-концевая метка His (LEHHHHHH)

CSSFQNVSSLDEKNSVSVDLPGEMKVLVSKEKNKDGKYDLIATVDKLELKGTSKNNNGS
GVLEGVKADKSKVKLTISDDLQTTLEVFKEGKTLVSKKVTSDKKSSTEEKFNEKGEVSEKII
TRADGTRLEYTGKSDGSGKAKEVLKGYVLEGTTLTAEKTTLVVKEGTVTLSKNISKSGEVSVEL
NDTDSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKKTDLVFTKENTITVQQYDSNGTKLEGSVEITKL
DEIKNALKLEHHHHHHH

SEQ ID NO: 211

Цистеин-содержащий пептид с OspA

CKQN

SEQ ID NO: 212

Химерный OspA серотипа 1/серотипа 2, N-концевая липидация
LipcAQKGAESIGSVSVDLPGEMKVLVSKEKDKNGKYDLIATVDKLELKGTSKNNNGSGV
LEGVKTNKS VKLTISDDLQTTLEVFKEGKTLVSKKVTSDKKSSTEEKFNEKGEVSEKII
ADGTRLEYTGKSDGTGKAKYVLKNFTLEGKVANDKTTLEVKEGTVTLSMNISKSGEVSVELND
TDSSAATKKTAAWNSKTSTLTISVNSKKTQQLVFTKQDTITVQKYDSAGTNLEGTAVEIKTLDE
LKNALKLE

SEQ ID NO: 213

аминокислоты в положениях 126-274 *B. garinii*, штамм T25,
OspA серотипа 7

FNDKGLSEKVVTRANGTRLEYTEIQNDGSGKAKEVLKSLTLEGTTLTADGETKLTVEAGT
VTLSKNISESGEITVELKDTETTPADKKSGTWDSKTSTLTISKNSQKTKQLVFTKENTITVQKY
NTAGTKLEGSPAIEIKDLEALKAALK

SEQ ID NO: 214

Прямой олигонуклеотидный праймер для гена RecA *Borrelia*

CATGCTCTTGATCCTGTTTA

SEQ ID NO: 215

Гистидиновая метка

GLENNNNNN

SEQ ID NO: 216

Обратный олигонуклеотидный праймер для гена *RecA Borrelia*

СССАТТТСТССАТСТАТСТС

Полное содержание всех ссылок (в частности, литературные ссылки, выданные патенты, опубликованные патентные заявки и патентные заявки, которые рассматриваются параллельно), процитированных в настоящей заявке, таким образом, явно включено посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полипептид, содержащий липидированный гетеродимер мутантных фрагментов OspA с последовательностью SEQ ID NO: 190 (Lip-S5D1-S6D1) или его любой функциональный вариант с последовательностью, идентичной по меньшей мере на 80% последовательности SEQ ID NO: 190, причем указанный полипептид имеет защитную активность против *Borrelia*, которая отличается от контрольной активности плацебо по меньшей мере на 50%.

2. Полипептид по п. 1, состоящий из липидированного гетеродимера мутантных фрагментов OspA с последовательностью SEQ ID NO: 190 (Lip-S5D1-S6D1).

3. Полинуклеотид, кодирующий полипептид по п. 1.

4. Способ получения полипептида по п. 1, включающий следующие стадии:

а) введение вектора, который содержит полинуклеотид по п. 3, в клетку-хозяина,

б) выращивание клетки-хозяина в условиях, которые обеспечивают экспрессию указанного полинуклеотида,

с) гомогенизацию указанной клетки-хозяина, и

д) очистку гомогената клетки-хозяина.

5. Фармацевтическая композиция, содержащая полипептид по п. 1, для лечения или профилактики инфекции *Borrelia*.

6. Фармацевтическая композиция по п. 5, дополнительно содержащая L-метионин.

7. Фармацевтическая композиция по п. 5, дополнительно содержащая иммуностимулирующее вещество, выбранное из поликатионных полимеров, поликатионных пептидов, иммуностимулирующих олигодезоксинуклеотидов (ОДН), олиго(dIdC)₁₃ (SEQ ID NO: 32), пептидов, содержащих по меньшей мере два мотива KLK, пептида KLKLLLLLKLK (SEQ ID NO: 33), нейроактивных соединений, гормона роста человека, гидроксида алюминия, фосфата алюминия, полных или неполных адъювантов Фрейнда, или их комбинаций.

8. Фармацевтическая композиция по п. 5, которая представляет собой вакцину.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая липидированные

гетеродимеры мутантных фрагментов OspA с последовательностью SEQ ID NO: 190 (Lip-S5D1-S6D1) и SEQ ID NO: 186 (Lip-S1D1-S2D1) для лечения или профилактики инфекции *Borrelia*.

10. Применение полипептида по п. 1 в качестве лекарственного средства для лечения или профилактики инфекции *Borrelia*.

11. Применение полипептида по п. 1 в способе лечения или профилактики инфекции *Borrelia*.

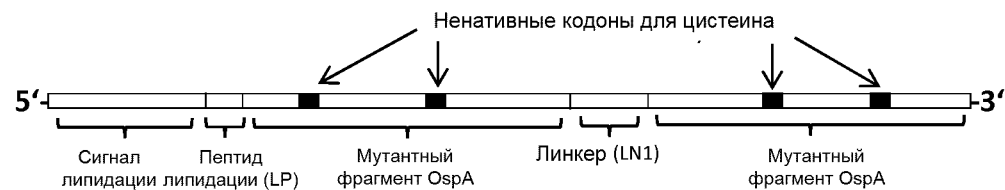
12. Применение фармацевтической композиции по п. 5 в способе лечения или профилактики инфекции *Borrelia*.

По доверенности

		1	60
ST3 (17-274)	(1)	CKQNVSSLDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSIMATVEKLELKGTSDKNSNGSGVL	
ST1 (17-273)	(1)	CKQNVSSLDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKNDCKYDLIATVDKLELKGTSDKNNNGSGVL	
ST4 (17-273)	(1)	CKQNVSSLDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSIMATVDKLELKGTSDKNSNGSGTTL	
ST5 (17-273)	(1)	CKQNVSSLDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSIMATVEKLELKGTSDKNNNGSGTTL	
ST6 (17-274)	(1)	CKQNVSSLDEKNSVSVDLPGGMTVLVSKEKDKDGKYSLEATVDKLELKGTSDKNNNGSGTTL	
ST2 (17-273)	(1)	CKQNVSSLDEKNSASVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSIMATVDKLELKGTSDKNNNGSGVL	
Консенсус	(1)	CKQNVSSLDEKNSVSVDLPGGMKVLVSKEKDKDGKYSIMATVDKLELKGTSDKNNNGSGVL	
		61	120
ST3 (17-274)	(61)	EGEKADKSKAKLTISQDINQTFEIFKEDGKTLVSRKVNSKDKSSTEKFNKDKKISEKV	
ST1 (17-273)	(61)	EGVKADKSKVKLTISDDLGQTTLEVPKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEKFNKGEVSEKI	
ST4 (17-273)	(61)	EGERSDKSKAKLTISEDLSKTFEIFKEDGKTLVSKKVNKDKSIEEFNAKGEISEKT	
ST5 (17-273)	(61)	EGETDKSKVKLTIAEDLSKTFEIFKEDGKTLVSKKVTLKDKSSTEKFNKGEISEKT	
ST6 (17-274)	(61)	EGETDKSKVKSTIADDLSQTFEIFKEDGKTLVSKKVTLKDKSSTEKFNKGEISEKT	
ST2 (17-273)	(61)	EGTKDDKSKAKLTIAADDLSQTFEILLKEDGKTLVSRKVSSEDKTSTDEMFNEKGEISEKT	
Консенсус	(61)	EGETDKSKVKLTIAADDLSQTFEIFKEDGKTLVSKKVTSKDKSSTEKFNKGEISEKT	
		121	180
ST3 (17-274)	(121)	IVRANGTRLEYTEIKNDGSGKAKEVLKGFALGTLTDGGETKLIVIEGTVTLISKNISKSG	
ST1 (17-273)	(121)	ITRADGTRLEYTEIKSDGSGKAKEVLKGVLEGLTAE-KITLVVKEGTVTLISKNISKSG	
ST4 (17-273)	(121)	ILRANGTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKDFALGTLAAD-KITLKVTEGTVTLISKHIPNSG	
ST5 (17-273)	(121)	IVRANGTRLEYTDIKSDGTGKAKEVLKDFTLGTLAADGKTTIKVTEGTVTLISKNISKSG	
ST6 (17-274)	(121)	IVRANGTRLEYTDIKSDGSGKAKEVLKDFTLGTLAADGKTTIKVTEGTVTLISKNILKSG	
ST2 (17-273)	(121)	IVTRENKTRLEYTEIKSDGTGKAKEVLKFTLEGKVAND-KVTLEVKEGTVTLISKETAKSG	
Консенсус	(121)	ITRANGTRLEYTEIKSDGSGKAKEVLKDFTLGTLAADGKTTIKVTEGTVTLISKNISKSG	
		181	240
ST3 (17-274)	(181)	EITVALNDTETTPADKKTGKWSDTSTLTISVNSKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAGINL	
ST1 (17-273)	(180)	EVSVELNDTSSAATKKTAAWNSGTSTLTITVNSKTKDLVFTKEDTITVQNYDSAGINKL	
ST4 (17-273)	(180)	EITVELNDNSTQATKKTGKWDSTSTLTISVNSKTKNIVFTKEDTITVQNYDSAGINL	
ST5 (17-273)	(181)	EITVALDDTDSS-GNKKSGTWDSTSTLTISKNRTKIKQLVFTKEDTITVQNYDSAGINL	
ST6 (17-274)	(181)	EITAAALDDSDITRATKKTGKWDSTSTLTISVNSKTKNIVFTKEDTITVQNYDSAGINL	
ST2 (17-273)	(180)	EITVALNDTNTTQATKKTGAWDSKTSTLTISVNSKTKITQLVFTKQYTIIVKQYDSAGINL	
Консенсус	(181)	EITVALNDTDSTATKKTGWDS-TSTLTISVNSKTKQLVFTKEDTITVQNYDSAGINL	
		241	258
ST3 (17-274)	(241)	EGSPAEIKDLAELKAALK	
ST1 (17-273)	(240)	EGSAVEITIKLDELKNALK	
ST4 (17-273)	(240)	ECNAVEIKTLDELKNALK	
ST5 (17-273)	(240)	EGKAVEITIKELKNALK	
ST6 (17-274)	(241)	EGKAVEITIKELKNALK	
ST2 (17-273)	(240)	EGTAVEIKTLDELKNALK	
Консенсус	(241)	EGSAVEITTLDELKNALK	

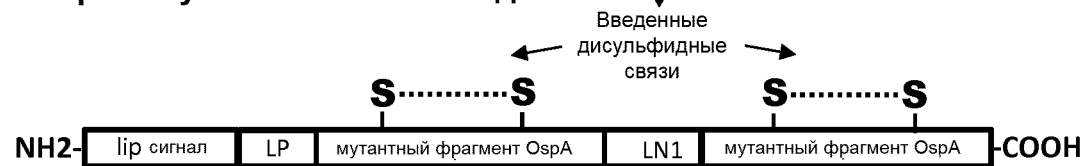
ФИГ. 1

А. Нуклеиновая кислота, кодирующая гетеродимерный полипептид мутантного OspA



Трансляция

Б. Промежуточный полипептид

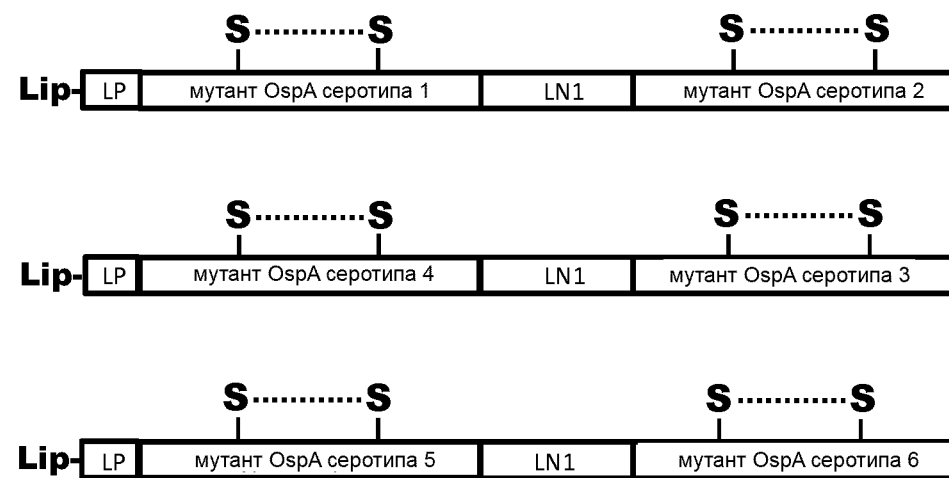


Посттрансляционная модификация

В. Конечный липидированный полипептид



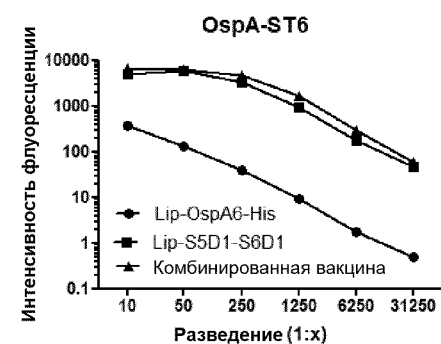
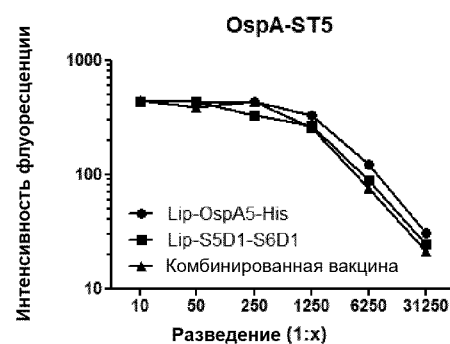
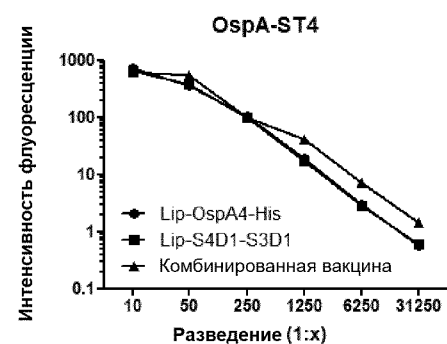
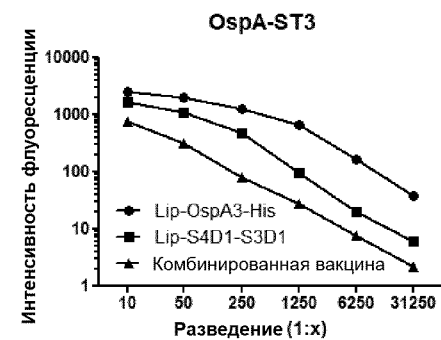
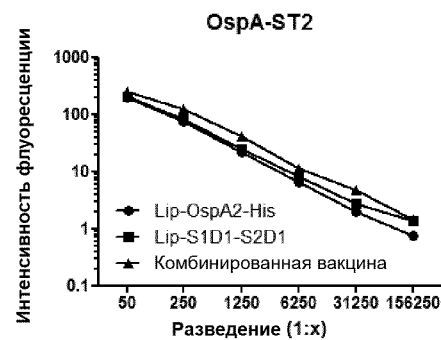
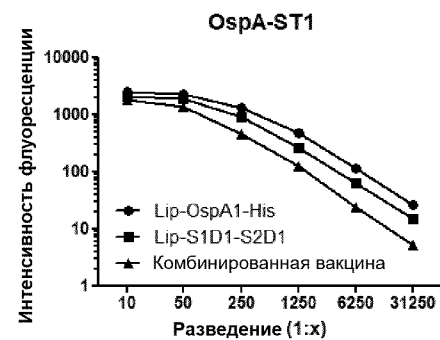
ФИГ. 2



ФИГ. 3



ФИГ. 4



ФИГ. 5

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ
ПОИСКЕ(статья 15(3) ЕАПК и правило 42
Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

201991059

Дата подачи: 08 июля 2013 (08.07.2013) Дата испрашиваемого приоритета: 06 июля 2012 (06.07.2012)

Название изобретения: Мутантные фрагменты OsrA и связанные с ними способы и применение

Заявитель: ВАЛНЕВА АУСТРИА ГМБХ

☐ Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа)☐ Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

МПК: C07K 14/20 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)СПК: C07K 14/20 (2013-01)
C12P 21/02 (2013-01)
A61K 39/02 (2013-01)
A61K 39/0225 (2013-01)
A61P 31/04 (2018-01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК)

C07K 14/20, C12P 21/02, A61K 39/02, A61P 31/04

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	База данных: GenBank: CAA59726.1, 18.04.2005, последовательность	1-12
A	WO 2011/143617 A1 (BAXTER INTERNATIONAL INC. et al.) 17.11.2011, реферат, формула	1-12
A	WO 2008/031133 A2 (INTERCELL AG et al.) 20.03.2008, реферат, формула	1-12

☐ последующие документы указаны в продолжении графы В☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении

* Особые категории ссылочных документов:

"А" документ, определяющий общий уровень техники

"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета

"D" документ, приведенный в евразийской заявке

"Т" более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

"&" документ, являющийся патентом-аналогом

"L" документ, приведенный в других целях

Дата действительного завершения патентного поиска: 26 ноября 2019 (26.11.2019)

Наименование и адрес Международного поискового органа:

Федеральный институт

промышленной собственности

РФ, 125993, Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб.,
д. 30-1. Факс: (499) 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:

А.Н. Банченко

Телефон № (499) 240-25-91